

Estación Experimental de Aula Dei
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Zaragoza

Tesis Doctoral

*Optimización en el uso del agua y del abonado nitrogenado
en plantaciones de manzano (*Malus x domestica* Borkh)
cultivadas en zonas vulnerables del Valle Medio del Ebro:
Influencia sobre la fisiología del crecimiento vegetativo,
reproductivo y la calidad de fruto*

Memoria presentada por D. Jorge Luis Parés Martínez,
Ingeniero Agrónomo, para optar al grado de Doctor por
la Universidad de Zaragoza

Zaragoza, 2010



MINISTERIO
DE CIENCIA
E INNOVACIÓN



D. ÁLVARO BLANCO BRAÑA, Investigador Científico, y D. JESÚS VAL FALCÓN, Científico Titular de la Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)

CERTIFICAN

Que la Tesis Doctoral titulada **“Optimización en el uso del agua y del abonado nitrogenado en plantaciones de manzano (*Malus x domestica* Borkh) cultivadas en zonas vulnerables del Valle Medio del Ebro: Influencia sobre la fisiología del crecimiento vegetativo, reproductivo y la calidad de fruto”**, ha sido realizada por el Ingeniero Agrónomo D. JORGE LUIS PARÉS MARTÍNEZ, bajo nuestra dirección, y se presenta en el Departamento de Agricultura y Economía Agraria, para ser admitida a trámite por considerar que cumple los requisitos para su presentación y defensa ante el tribunal correspondiente.

Igualmente queremos hacer constar que el contenido de ésta Tesis Doctoral se corresponde con el proyecto de Tesis aprobado por el Departamento de Agricultura y Economía Agraria en fecha 14/01/2010.

Zaragoza, Junio de 2010

Fdo. Dr. Álvaro Blanco Braña

Fdo. Dr. Jesús Val Falcón

AGRADECIMIENTOS

Con gran orgullo y afecto doy las gracias a quienes han contribuido a la realización de este trabajo.

En primer lugar, al Dr. Álvaro Blanco, no sólo por su excelente labor como director de Tesis, sino también por haberme demostrado lo importante de contar con una mano amiga en aquellos momentos en los que todo parece perdido.

Al Dr. Jesús Val, admirable asesor, quién como persona e investigador me ha prestado su apoyo y colaboración de diferentes formas.

Al Dr. Joaquín Aibar Lete, profesor de la Escuela Superior Politécnica de Huesca, Universidad de Zaragoza, por su desempeño como tutor académico.

A la estación Experimental de Aula Dei (CSIC) por brindarme la oportunidad de llevar acabo el desarrollo de ésta Tesis, y por el apoyo institucional otorgado.

A los Departamentos de Pomología y de Nutrición Vegetal de la Estación Experimental de Aula Dei (C.S.I.C.) por haberme proporcionado los medios necesarios para llevar a buen fin este trabajo.

A D. José Luis Espada, miembro del Centro de Transferencia Agroalimentarias del Gobierno de Aragón, por sus amplios conocimientos en agronomía y por su interés en el buen desempeño de los ensayos de campo.

Estaré profundamente en deuda con María Pilar Soteras y su estupenda familia, a quienes doy un agradecimiento muy especial por su ayuda oportuna e incondicional.

Mil gracias a M^a Ángeles Gracia, por su confianza, su apoyo ilimitado y su paciencia.

Gracias también a las siguientes personas, cuyo acertado apoyo ha sido una valiosa contribución para la ejecución de este trabajo: David Camón, Pedro Sánchez, Azahara Díaz, Miriam Domínguez, Pilar Dolz, Isabel Claramunt, Sara del Río, Sergio Barahona y David Risco.

A mis hermanos Diego, Gerardo y Ervin y a sus familias, por su apoyo a lo largo de todo este tiempo, y en especial durante los primeros días de haber iniciado este camino.

A los señores Juan José y Eugenio Valero, por haber facilitado las fincas, donde hemos llevado a buen término los ensayos de esta Tesis.

Y mis más efusivas gracias a Lenny, compañera excepcional, y a mis dos admirables hijos: Jorge y Luis; gracias por vuestra correspondencia, y por haber aceptado compartir esta atrevida, pero satisfactoria, aventura.

Sin ustedes esta Memoria, que tienen entre sus manos, no habría sido posible.

Este Trabajo ha sido financiado por los proyectos de investigación: AGL2004-04305/AGR (Plan Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias, Ministerio de Ciencia e Innovación), y PM017 (Gobierno de Aragón).

*Dedico este trabajo a mis hijos, Jorge y Luis;
A mi pareja, Lenny;
A mi madre;
y muy especialmente a la memoria de mi padre.*

Índice de contenido

Introducción	1
El manzano.....	3
Producción y distribución del manzano en España.....	5
Exigencias edafoclimáticas del manzano.....	6
Agua, nitrógeno, agricultura y medio ambiente.....	7
Implicaciones fisiológicas y agronómicas de la nutrición hídrica y nitrogenada	12
El déficit hídrico y la escasez de nitrógeno en las plantas	15
1. El estrés hídrico y las modificaciones fisiológicas	17
2. El estrés hídrico y las adaptaciones morfológicas	23
3. El estrés hídrico y las respuestas de desarrollo	26
4. El estrés hídrico y las adaptaciones celulares	28
Deficiencia hídrica, nitrógeno y la calidad del fruto.....	32
El agua y la absorción de nutrientes	36
Absorción y asimilación del nitrógeno por la planta	38
Estrategias agronómicas en la nutrición hídrica y nitrogenada	40
Objetivos.....	47
Objetivo general:.....	49
Objetivos específicos:	49
Material y Métodos.....	51
Localización de los ensayos.....	53

Material Vegetal.....	54
Prácticas hortícolas.....	57
Ensayos realizados y diseño de experimentos.....	58
Ensayos de déficit hídrico.	58
Primer ensayo, año experimental 2006:	58
Segundo ensayo, años experimentales de 2007, 2008 y 2009.....	59
Ensayos de fertilización nitrogenada.....	60
Ensayo 1. Fertilización nitrogenada edáfica. Explotación agrícola La Pardina. Año 2006.	60
Ensayo 2. Fertilización nitrogenada edáfica. Finca experimental de la EEAD. Año 2007.	62
Ensayo 3. Sobrefertilización nitrogenada. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2007.	63
Ensayo 4. Fertilización nitrogenada foliar. Finca experimental de la EEAD. Año 2008.	64
Ensayo 5. Fertilización nitrogenada foliar. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2008.	65
Ensayo 6. Fertilización nitrogenada foliar. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2009.	65
Ensayo 7. Fertilización nitrogenada foliar. Finca experimental de la EEAD. Año 2009.	66
Variables evaluadas:.....	67
a) En el suelo.	67
a.1. Contenido de humedad.	67
a.2. Determinación de nitratos en solución del suelo	67

b) En la planta.	67
b.1. Potencial hídrico.	67
b.2. biometría de los brotes	68
b.3. Dinámica del crecimiento de brotes y ajuste del modelo de crecimiento....	68
b.4. Biometría de hojas.	69
b.5. Radiación fotosintéticamente activa (PAR).....	69
b.6. Sección transversal de área de tronco (STAT).	70
b.7. Tasa fotosintética.	70
b.8. Densidad estomática.	70
b.9. Índice de clorofila (SPAD).	71
b.10. Fluorescencia de clorofila.	71
b.11. Concentración de almidón.	72
b.12. Extracción y determinación de azúcares solubles.....	72
b.13. Crecimiento de frutos y ajuste del modelo de crecimiento.....	74
c) Parámetros de producción.....	74
d) Productividad del agua.	75
e) Calidad postcosecha.....	75
e.1. Sólidos solubles totales.	75
e.2. Acidez valorable de la pulpa.	76
e.3. Firmeza.....	76
e.4 Color de la piel.	76

e.5 Índice de almidón.	78
e.6 Incidencia de bitter pit tras el almacenamiento.	78
f) Análisis de elementos minerales.....	78
Análisis Estadístico.	81
Resultados y discusión	83
Ensayos de irrigación.	85
Pluviometría anual.....	85
Pluviometría durante el período de crecimiento.....	86
Evapotranspiración.	86
Balance de humedad.....	87
Estado hídrico del suelo.	87
Estado hídrico de los árboles.....	91
Crecimiento vegetativo.....	94
Capacidad fotosintética foliar y contenido de carbohidratos.	103
Crecimiento de frutos, parámetros productivos y productividad del agua.....	116
Calidad de fruto	123
Concentración de elementos minerales en frutos y hojas.....	135
Ensayos de fertilización nitrogenada.....	143
Contenido de NO_3^- en la solución del suelo.	143
Crecimiento vegetativo.....	145
Capacidad fotosintética foliar y contenido de carbohidratos.	162

Crecimiento de frutos.....	186
Parámetros de producción.....	193
Calidad de frutos.	200
Contenido de nutrientes en hojas y frutos del manzano.	225
Consideraciones finales	261
Conclusiones.....	271
Referencias.....	277

Índice de Tablas

Tabla 1. Características físico-químicas de los suelos donde se realizaron los ensayos.....	57
Tabla 2. Potencial hídrico xilemático (Mpa), en diferentes fechas (DTPF), en plantas de manzano 'Golden Reinders' sometidas a distintos regímenes de riego en 4 ciclos productivos (2006 - 2009).	92
Tabla 3. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre variables morfológicas y contenido de humedad de brotes de manzano 'Golden Reinders' al finalizar cada ensayo.	94
Tabla 4. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos. ...	98
Tabla 5. Máxima longitud de brotes (C), fecha de máximo crecimiento (M) y máxima razón de crecimiento (m) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos durante los ciclos productivos de 2006 y de 2007.....	99
Tabla 6. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre el área foliar y el peso seco y peso foliar específico de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas de las temporadas 2006, 2007 y 2008.....	100
Tabla 7. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la intercepción de la radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) registrada en diferentes fechas.	102
Tabla 8. Incremento relativo (%) de la sección transversal de área del tronco (ISTAT) de manzanos sometidos a diferentes regímenes hídricos durante tres temporadas consecutivas (2007- 2008- 2009).....	102
Tabla 9. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la tasa fotosintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en árboles de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas...	104
Tabla 10. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la conductancia estomática de CO_2 y la tasa de transpiración ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en árboles de manzano en diferentes momentos de la temporada 2009.	106
Tabla 11. Densidad estomática ($\text{N}^\circ \text{mm}^{-2}$) del tercio basal, medio y apical de hojas de manzanos sujetas a diferentes regímenes de humedad (ciclo de 2009).	107

Tabla 12. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre el índice de clorofila (SPAD) en hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras plena floración (ciclos productivos 2006 - 2009).....	109
Tabla 13. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de almidón (mg g ⁻¹ MS) en hojas analizadas en 2 fechas (120 DTPF y Recolección), brotes en invierno y frutos, al momento de la recolección.....	111
Tabla 14. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración total de carbohidratos solubles (mg.g ⁻¹ MS) en hojas analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos al momento de la recolección.	112
Tabla 15. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de azúcares solubles (mg g ⁻¹ MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 120 DTPF y al momento de la recolección.	114
Tabla 16. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de azúcares solubles (mg g ⁻¹ MS) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' en recolección.....	115
Tabla 17. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzanos en términos de calibre.	118
Tabla 18. Máximo calibre de frutos (C), fecha de máximo crecimiento (M) y máxima razón de crecimiento (m) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos durante los ciclos productivos de 2006 y de 2007.	119
Tabla 19. Efecto de diferentes regimenes de riego sobre la recolección en árboles de manzano "Golden Reinders", en 4 ciclos productivos (2006-2009).	121
Tabla 20. Agua aportada y su productividad (WP) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes de riego en 4 ciclos productivos (2004-2009).....	122
Tabla 21. Calibre promedio de frutos (mm) a la recolección, obtenidos de manzanos sometidos a diferentes regímenes hídricos.....	123
Tabla 22. Efecto del régimen hídrico sobre la distribución porcentual de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' según su categoría comercial.....	124
Tabla 23. Efecto de diferentes regímenes de riego sobre variables de calidad de frutos de manzano 'Golden Reinders', en la recolección durante 4 ciclos productivos (2006 - 2009).	127

Tabla 24. Efecto de diferentes regímenes de riego sobre el color de frutos de manzano 'Golden Reinders', en la recolección durante 4 ciclos productivos (2006 – 2009).....	130
Tabla 25. Ecuaciones de predicción de la incidencia de bitter pit tras el almacenamiento de los frutos de árboles de manzano bajo 3 regímenes hídricos en cámara convencional.....	132
Tabla 26. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la sobre la concentración (mg 100 g ⁻¹ MF) de Ca, Mg y K en pulpa y piel de frutos de manzanos 'Golden Reinders', en dos fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).....	136
Tabla 27. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la sobre la concentración de macronutrientes a nivel foliar (% MS) en plantas de manzano 'Golden Reinders', a diferentes fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).	139
Tabla 28. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la sobre la concentración de micronutrientes a nivel foliar (mg 100g ⁻¹ MS) en plantas de manzano 'Golden Reinders', a diferentes fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).....	140
Tabla 29. NO ₃ ⁻ en el agua de riego e influencia de la fertilización nitrogenada edáfica sobre su concentración en la solución del suelo.....	144
Tabla 30. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre variables morfológicas de los brotes de manzanos y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayos 1 y 2).	146
Tabla 31. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos 'Golden Reinders' (Ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (Ensayo 2) fertilizados vía edáfica (ensayos 1 y 2).....	148
Tabla 32. Parámetros de crecimiento de brotes de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente.	150
Tabla 33. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 81 DTPF (ensayo 1).....	150
Tabla 34. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 2).	151

Tabla 35. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' al finalizar el ensayo (Ensayo 2).....	153
Tabla 36. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre variables morfológicas de brotes de manzanos 'Golden Reinders' y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayo 3).....	154
Tabla 37. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 3).....	155
Tabla 38. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre los parámetros de crecimiento de brotes de manzano 'Golden Reinders' (ensayo 3).....	156
Tabla 39. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 3).	157
Tabla 40. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Golden Reinders' al finalizar el ensayo (Ensayo 3).....	159
Tabla 41. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre variables morfológicas de brotes de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayo 4).	160
Tabla 42. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la biometría de hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 4).	161
Tabla 43. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' al finalizar el ensayo (ensayo 4).....	162
Tabla 44. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la tasa fotosintética neta y el contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) en diferentes fechas tras la floración.	163
Tabla 45. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en el momento de la recolección.	164

Tabla 46. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en el momento de la recolección.	165
Tabla 47. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) a los 120 DTPF y en la recolección.	166
Tabla 48. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) en la recolección.	167
Tabla 49. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la tasa fotosintética y el contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 3).	168
Tabla 50. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), en brotes en invierno y en frutos en la recolección (ensayo 3).	169
Tabla 51. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 3).	170
Tabla 52. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 120 DTPF y en la recolección (ensayo 3).	170
Tabla 53. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).	171
Tabla 54. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la tasa fotosintética y los niveles de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 5).	172
Tabla 55. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la	

tasa fotosintética y los niveles de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 6).....	174
Tabla 56. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), en brotes en invierno y en frutos en la recolección (ensayo 5).....	175
Tabla 57. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 5).	177
Tabla 58. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de azúcares solubles en hojas ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) de manzanos 'Golden reinders' a los 120 DTPF y en la recolección (ensayo 5).....	178
Tabla 59. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de azúcares solubles en frutos ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).	180
Tabla 60. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la tasa de fotosíntesis y contenido de clorofilas en hojas de árboles de manzano 'Smoother Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 4).....	181
Tabla 61. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), brotes en invierno y frutos en la recolección (ensayo 4).....	182
Tabla 62. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 4).	183
Tabla 63. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' a los 120 DTPF y en la recolección (ensayo 4).....	184

Tabla 64. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en frutos de manzano 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).....	184
Tabla 65. Efecto de la fertilización nitrogenada foliar sobre la tasa de fotosíntesis y contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en diferentes fechas (ensayo 7).	185
Tabla 66. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados vía edáfica.	188
Tabla 67. Parámetros de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) bajo la influencia de la fertilización nitrogenada edáfica.	189
Tabla 68. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el calibre y proporción de materia seca acumulada por los frutos de manzano 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).	190
Tabla 69. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' bajo sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3).....	191
Tabla 70. Parámetros de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' bajo la influencia de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3)..	192
Tabla 71. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre el calibre de frutos de manzano 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).	193
Tabla 72. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1).	194
Tabla 73. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la producción de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2).	194
Tabla 74. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la producción de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 4).	195
Tabla 75. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la producción de árboles de manzano 'Golden Reinders' (ensayo 3).....	196
Tabla 76. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 5).	197

Tabla 77. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 6).....	198
Tabla 78. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la calidad del fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 1).....	200
Tabla 79. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la calidad del fruto de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 2).....	201
Tabla 80. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la calidad del fruto de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).....	202
Tabla 81. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en recolección (ensayo 3).	204
Tabla 82. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en el momento en la recolección (ensayo 5).....	205
Tabla 83. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 6).....	207
Tabla 84. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 1).....	213
Tabla 85. Efecto la fertilización nitrogenada edáfica sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 2).....	214
Tabla 86. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).....	215
Tabla 87. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).	216
Tabla 88. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la	

cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).....	218
Tabla 89. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 6).....	219
Tabla 90. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (ensayos 1 y 2).	228
Tabla 91. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (ensayos 1 y 2).	232
Tabla 92. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de frutos de manzanos 'Golden Reinders' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 1).....	234
Tabla 93. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de fruto de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 2).....	235
Tabla 94. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayo 4).	237
Tabla 95. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayo 4).	238
Tabla 96. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de Ca, Mg y K ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de frutos de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 4).	240
Tabla 97. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayos 3 y 5).....	242
Tabla 98. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de N, P y K (% MS) en de hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 3).	242
Tabla 99. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de N, P y K (% MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).	244

Tabla 100. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de Ca y Mg (% MS) en de hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 3).	245
Tabla 101. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de Ca y Mg (% MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).	247
Tabla 102. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayos 3 y 5).	249
Tabla 103. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) en la concentración de Fe, Mn, Cu y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) en de hojas de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 3).	250
Tabla 104. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de Fe, Mn, Cu y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).	251
Tabla 105. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ MF) en pulpa y piel de frutos de manzanos 'Golden Reinders' en 2 dos fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 3).	252
Tabla 106. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}\text{MF}$) en pulpa y piel de frutos de manzano 'Golden Reinders' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 5).	253

Índice de Figuras

Figura 1. Datos meteorológicos tomados de la estación agroclimatológica de Almonacid de la Sierra (Red SIAR).	55
Figura 2. Datos meteorológicos tomados de la estación agroclimatológica de Montañana (Red SIAR).	56
Figura 3. Volumen de agua aportada al suelo según los tratamientos aplicados en los distintos años de evaluación. T100 (●), T75 (■) y T50 (▲).	61
Figura 4. Diagramas de color (a), luminosidad y contraste (b).	77
Figura 5. Código de regresión del almidón en manzanas.	79
Figura 6. Humedad volumétrica del suelo en los primeros 40 cm de profundidad según los distintos tratamientos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) para cada año de evaluación.	88
Figura 7. Perfil del contenido promedio de humedad volumétrica registrada durante el período de realización de los ensayos vs. la profundidad para los tres regímenes de riego establecidos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en las 4 estaciones de crecimiento evaluadas.	90
Figura 8. Evolución del crecimiento de los brotes de manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en las temporadas de 2006 y de 2007.	97
Figura 9. Relación entre la tasa de fotosíntesis foliar y el potencial hídrico xilemático medido al mediodía.	105
Figura 10. Relación fluorescencia variable/fluorescencia máxima clorofílica (Fv/Fm) de hojas adaptadas a la oscuridad de árboles de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)).	110
Figura 11. Evolución del calibre de frutos manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en 2 ciclos productivos.	117
Figura 12. Evolución postcosecha de la incidencia de bitter pit en frutos manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)).	131

Figura 13. Curvas de crecimiento de brotes de manzanos afectados por la fertilización nitrogenada (2006: ensayo 1; 2007: ensayo 2).....	149
Figura 14. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre el porcentaje de suelo sombreado al pie de los árboles de manzano ‘Smoothie Golden Delicious’ (ensayo 2).....	152
Figura 15. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la evolución del crecimiento de brotes de manzanos (ensayo 3).	155
Figura 16. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el porcentaje de suelo sombreado al pie de los árboles de manzano ‘Golden Reinders’ (ensayo 3).....	158
Figura 17. Interacción formulación x vía de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre concentración de almidón en brotes de manzanos ‘Golden Reinders’ recolectados en invierno (ensayo 5).....	176
Figura 18. Interacción formulación x vía de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre concentración de sacarosa y glucosa en hojas de manzanos ‘Golden Reinders’ en la recolección (ensayo 5).	179
Figura 19. Árboles de manzano ‘Smoothie Golden Delicious’ bajo la influencia del suministro foliar de NH_4NO_3 (A: tratamiento 4; B: tratamiento 5).....	186
Figura 20. Curvas de crecimiento de frutos de manzano afectados por la fertilización nitrogenada (A: ensayo 1; B: ensayo 2).....	187
Figura 21. Curvas de crecimiento de frutos de manzanos afectados por sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3).	191
Figura 22. Efecto de interacción vía x forma de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre algunos parámetros de calidad de fruto de manzanos ‘Golden Reinders’ en la recolección (ensayo 5).	206
Figura 23. Efecto de interacción formulación x aplicación de los fertilizantes nitrogenados sobre algunos parámetros de calidad de fruto de manzanos ‘Golden Reinders’ en la recolección (ensayo 6).	209
Figura 24. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos ‘Golden Reinders’ a los 30 días de almacenamiento (ensayo 1).	220
Figura 25. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos ‘Smoothie Golden Delicious’ durante el	

almacenamiento (ensayo 2). (♦ 0 UFN ($y = 0,4312 \text{ Ln}(x) + 0,0268$) ($r^2=0,6875^{ns}$); ■ 32 UFN ($y = 2,0034 \text{ Ln}(x) - 4,4907$) ($r^2=0,9794^{**}$); ▲ 64 UFN ($y = 3,0116 \text{ Ln}(x) - 9,2072$) ($r^2=0,7335^*$); x 97 UFN ($y = 5,2093 \text{ Ln}(x) - 15,517$) ($r^2=0,917^*$))......221

Figura 26. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 3). (♦ 32 UFN (Tb) ($y = 0,4184 \text{ Ln}(x) + 2,0941$) ($r^2=0,8354^{ns}$); ■ Tb + 65 UFN edáfico ($y = 2,5349 \text{ Ln}(x) - 0,6799$) ($r^2=0,9659^*$); ▲ Tb + 87 UFN edáfico ($y = 2,7696 \text{ Ln}(x) - 0,5222$) ($r^2=0,9677^*$); x Tb + 65 UFN foliar ($y = 7,8742 \text{ Ln}(x) - 9,3216$) ($r^2=0,916^*$))......222

Figura 27. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Smoother Golden Delicious' durante el almacenamiento (ensayo 4). (♦ 0 UNF ($y = 2,905 \text{ Ln}(x) - 7,859$) ($r^2=0,942^{**}$); ■ 32 UFN NH_4NO_3 edáfico ($y = 4,236 \text{ Ln}(x) - 11,515$) ($r^2=0,935^*$); ▲ 32 UFN NH_4NO_3 foliar ($y = 5,781 \text{ Ln}(x) - 15,197$) ($r^2=0,922^*$); x 32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar ($y = 4,8824 \text{ Ln}(x) - 13,023$) ($r^2=0,876^*$))......223

Figura 28. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 5). (♦ 32 UFN (Tb) ($y = 3,048 \text{ Ln}(x) - 8,772$) ($r^2 = 0,784^*$); ■ Tb + 32 UFN NH_4NO_3 E ($y = 6,9371 \text{ Ln}(x) - 18,25$) ($r^2 = 0,939^*$); ▲ Tb + 32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ E ($y = 3,2739 \text{ Ln}(x) - 9,0948$) ($r^2 = 0,8834$); x Tb + 32 UFN $\text{NH}_4\text{NO}_3\text{F}$ ($y = 10,599 \text{ Ln}(x) - 25,73$) ($r^2 = 0,9768$); ● Tb + 32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2\text{F}$ ($y = 21,118 \text{ Ln}(x) - 51,794$) ($r^2 = 0,959^*$))......224

Figura 29. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 6). (♦ 24 UFN (Tb) ($y = 3,5644 \text{ Ln}(x) - 11,69$) ($r^2 = 0,949$) ($r^2 = 0,784^*$); ■ Tb + 32 UFN NH_4NO_3 edáfico ($y = 6,579 \text{ Ln}(x) - 21,467$) ($r^2 = 0,932^*$); ▲ Tb + 32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ edáfico ($y = 3,8892 \text{ Ln}(x) - 11,993$) ($r^2 = 0,733^{ns}$); x Tb + 32 UFN NH_4NO_3 foliar ($y = 9,7878 \text{ Ln}(x) - 30,656$) ($r^2 = 0,791^{ns}$); ● Tb + 32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar ($y = 11,706 \text{ Ln}(x) - 37,082$) ($r^2 = 0,821^{ns}$))......225

Figura 30. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos fertilizados edáficamente con nitrógeno (Ensayo 1: 'Golden Reinders'; Ensayo 2: 'Smoother Golden Delicious').....227

Figura 31. Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente con nitrógeno.229

Figura 32. Evolución de la concentración de micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente con nitrógeno.	231
Figura 33. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' a dosis bajas de N (ensayo 4).....	236
Figura 34. Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' a dosis bajas de N (ensayo 4).....	237
Figura 35. Evolución de la concentración micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' fertilizados a dosis bajas de N (ensayo 4).	239
Figura 36. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización nitrogenada.	241
Figura 37. Hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' bajo sobreaportación de 65 UFN ha ⁻¹ año ⁻¹ . A: Sobrefertilización vía foliar. B: Sobrefertilización vía edáfica.....	243
Figura 38. Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización nitrogenada.	246
Figura 39. Evolución de la concentración de micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzano 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización.....	248

RESUMEN

El agua es un recurso limitado y, al mismo tiempo, un factor de producción clave para la fruticultura aragonesa, región que presenta como característica distintiva, entre otros aspectos, la escasez, irregularidad y reparto desigual de las precipitaciones. Además del agua, el nitrógeno, es considerado como uno de los principales factores limitantes de la productividad agrícola de los cultivos. Si bien ambos factores se han utilizado indiscriminadamente durante décadas, su uso en exceso no es sostenible, ya sea por los elevados costos económicos como por los daños ambientales que pueden generar su forma tradicional de manejo. El nuevo enfoque de la agricultura moderna, dirigido a la reducción en las cantidades aplicadas de ambos, ha sido el que nos ha impulsado a diseñar distintos ensayos para evaluar la respuesta del manzano, en cultivo comercial y bajo las condiciones agroclimáticas del valle del Ebro, con la pretensión de hacer un uso más eficiente de ambos factores, afectando lo menos posible la productividad de los árboles y la calidad del producto final: el fruto.

Hemos ensayado tres niveles hídricos: el T100, que cubría completamente las necesidades hídricas del cultivo y los T50 y T75 establecidos con una restricción del 50 y 25 % de las exigencias hídricas de los árboles. Nuestros resultados han indicado que, bajo las condiciones de estudio, el riego deficitario aplicado sostenidamente desde plena floración hasta la recolección controla el crecimiento vegetativo del manzano. Sin embargo, de ambos regímenes deficitarios de humedad ensayados, con la reducción del aporte hídrico en un 25 % es posible controlar con éxito el crecimiento vegetativo sin afectar significativamente la producción y la calidad de las cosechas, en comparación a los árboles plenamente regados. Este hallazgo pone en evidencia que es posible mejorar la eficiencia en la utilización de cada litro de agua empleado con una adecuada administración del riego deficitario. La restricción del riego, a pesar de promover un descenso en el potencial hídrico xilemático de los árboles causa sólo ligeras disminuciones en la capacidad fotosintética foliar, quedando demostrado que por sí sólo, el riego deficitario moderado, no suele conllevar a una limitación muy importante de la relación fuente-sumidero. Además de ello, algunos de los parámetros que definen la calidad del fruto se incrementan con la

restricción de humedad, esto sin mencionar que el estado nutricional de los árboles, al igual que la concentración mineral en frutos, ha sido escasamente afectada con esta estrategia de irrigación, lo que supone argumentos adicionales a favor de la implementación de ésta estrategia de riego en las plantaciones comerciales de manzanos bajo las condiciones en las que se han llevado a cabo los experimentos.

La adición de nitrógeno aunque propicia su acumulación en la zona no saturada del suelo, no provoca alteraciones notables en los parámetros biométricos de las plantas y en la producción de los árboles. No obstante, el crecimiento longitudinal de los brotes terminales se alarga en el tiempo a consecuencia del exceso en el abono nitrogenado, principalmente el suministrado por vía foliar. También hemos observado que el aporte de N tiene un efecto promotor de la fotosíntesis, aunque la respuesta parece ser altamente dependiente de la edad de los árboles y de su historial de fertilización. Los aportes severos de N tienden a inhibir la capacidad fotosintética de las hojas.

Los resultados sugieren que las aplicaciones foliares de nitrógeno, y principalmente a base de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, son más efectivas que las de NH_4NO_3 . Por otro lado no hemos observado efectos significativos de los tratamientos sobre la concentración de los carbohidratos evaluados, aunque en hojas, los azúcares solubles, de mayor a menor, siempre siguieron el mismo orden: sorbitol, sacarosa, glucosa y fructosa. Al mismo tiempo, detectamos, al menos a nivel foliar, que las fluctuaciones en las concentraciones de azúcares solubles son concomitantes con las de almidón. Por otra parte, no se han producido alteraciones notables sobre los distintos parámetros que definen la productividad de los árboles, ni modificaciones de consideración en las características de calidad de frutos, aunque la sobrefertilización nitrogenada tiende a producir frutos algo más verdes. Adicionalmente hemos encontrado que la incidencia de bitter pit en los frutos almacenados en cámara de frío convencional ha sido favorecida por las aportaciones nitrogenadas. Por otra parte, la concentración y evolución de los elementos minerales en hojas y en frutos no se vio alterada por los tratamientos nitrogenados, aunque consideramos de mayor importancia que el manzano parece no presentar consumo de lujo de nitrógeno. De este estudio se desprende que la absorción de nitrógeno por el manzano depende sólo

de la demanda o necesidad del cultivo y no de la disponibilidad que exista en el medio. Por lo tanto, a la vista de estos hallazgos podría decirse que la absorción de N por el manzano depende sólo de necesidad del cultivo y que, por lo tanto, a pesar de ser el N el elemento más importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, el exceso de aporte no se traduce necesariamente en un efecto significativo, sobre el crecimiento, ni en la acumulación de N, ni en la producción, sino en un aumento en los costes de producción y en la contaminación del medio ambiente.

En general, nuestros resultados manifiestan que, tanto la aplicación de agua de riego como de N a manzanos, en cultivo comercial y bajo las condiciones agroclimáticas del valle del Ebro, pueden reducirse sin afectar la productividad de los árboles ni la calidad del fruto. Es más, estas reducciones llevan a aminorar el desarrollo de fisiopatías como el bitter pit.

Introducción

El manzano

El manzano, es una especie que pertenece a la familia Rosaceae, subfamilia Maloidae (Pomoidae) y género *Malus* (Agustí, 2004). A pesar de ser citados varios nombres para esta especie, su denominación como *Malus x domestica* Borkh es la aceptada para el manzano cultivado, según el Código Internacional de Nomenclatura de plantas Cultivadas (Petri y Leite, 2008).

El centro de origen está en el Cáucaso, específicamente en la región montañosa del Asia central y del este de China (Petri y Leite, 2008). Sin embargo, en asentamientos prehistóricos descubiertos en los lagos suizos, se han hallado restos carbonizados de manzanas. También existen referencias de la predilección de griegos y romanos por el consumo de este fruto, incluso se menciona lo difundido de su cultivo para aquellos momentos históricos (Luby, 2003). Se presume que el desarrollo actual de esta especie comenzó hace más de 20000 años (Petri y Leite, 2008).

El árbol del manzano tiene un porte natural globoso, con una altura máxima de 10 ± 2 m. La corteza del tronco es agrietada y de color marrón grisáceo. Las ramas se caracterizan por poseer corteza cubierta de lenticelas, lisa y de color verdoso en los ramos y escamosa y gris parda sobre las partes viejas del árbol (Agustí, 2004). Las hojas son simples, de forma oval, alternas, de ápice acuminado y de 4 a 13 cm de longitud. Tienen la base redondeada y el margen aserrado, son algo coriáceas y de color verde intenso por el haz, cubiertas de fina pubescencia pálida por el envés, con pecíolo notorio, dos estípulas caedizas en la base y 4 - 8 nervios alternados y bien desarrollados (Coque *et al.*, 1996).

El sistema de raíces del manzano es considerablemente plástico y aunque puede penetrar hasta profundidades superiores a 1 m (Neilsen y Neilsen, 2003), se ha demostrado que al estar injertados, por ejemplo sobre M9 la mayor actividad radicular se presenta en los horizontes superficiales (0 - 30 cm) (Atkinson, 1974). Además de ello, el sistema de raíces que se caracteriza por presentar distribución poco uniforme y muy baja densidad (Lakso, 2003). Sin embargo, tiene como particularidad poseer alta eficiencia en términos de absorción de agua o nutrientes,

adquiridos por unidad de carbono invertido bajo tierra (Wells y Wang, 2001), por tener el sistema radicular superficial puede adaptarse a terrenos poco profundos.

La inflorescencia es un corimbo que tiene entre 8 y 11 flores. Los botones florales pueden ocupar posición terminal o lateral, sobre la madera del año. Cada botón floral tiene en su base dos yemas de madera. Las flores son hermafroditas, casi sentadas o cortamente pedunculadas y pueden observarse, en el hemisferio norte, entre abril y mayo. Están formadas por 5 pétalos blancos en el interior y ligeramente rosados por fuera. Los cálices de 5 puntas son verduscos y tomentosos. El ovario es ínfero, ligeramente tomentoso con 5 estilos en la base y entre 10 a 30 estambres rodeando el ovario que suelen ser amarillos (Agusti, 2004).

El manzano al ser auto estéril, que exige de polinización cruzada, y necesita, por ello, de dos o más variedades compatibles y que florezcan en la misma fecha. El cultivar polinizador debe estar adecuadamente distribuido en el campo y en una cantidad de por lo menos el 10 % de la población total. La polinización es realizada con ayuda de polinizadores, principalmente por abejas (Dennis, 2003; Agusti, 2004). La fecha de recolección en el hemisferio norte va desde finales de julio hasta finales de septiembre o principios de octubre, según variedades y condiciones climáticas.

Los frutos son pomos carnosos, por lo general de forma ovoide, a veces alargados o redondeados. El endocarpio es cartilaginoso con 5 alvéolos que esconden semillas de color marrón oscuro. Su piel es casi siempre brillante y lisa. El color es muy diferente, que dependerá del tipo de variedad, pueden ser verdes, rojas, amarillas y bicolores. El pedúnculo del fruto igualmente depende de la variedad, ya que la longitud es variable y puede estar inserto en una depresión. La pulpa puede ser dura o blanda, pero siempre refrescante y jugosa, y su sabor va desde el muy dulce al muy ácido pasando por toda una mezcla de gustos acidulados y azucarados. La carne es más o menos aromática según la variedad (Coque *et al.*, 1996; Jackson, 2003).

El fruto del manzano posee sustancias pécticas y celulosa, que, junto con la lignina constituyen la fibra (Petri y Leite, 2008). Su composición química es aproximadamente 84 % de agua, 14 % de glúcidos, entre ellos glucosa y fructosa, un

1,5 % de ácidos orgánicos como el málico, cítrico, tartárico y luego en muy pequeñas cantidades, fenoles, lípidos, prótidos, pectinas y vitaminas A y C (Carrera, 1999).

Para conseguir un diámetro adecuado del fruto, lo importante es que ocurra una adecuada tasa de división celular, principalmente tras el cuajado. La intensidad de esta división es dependiente del número de manzanas existentes en el árbol, de ahí la importancia de la poda para eliminar las yemas de flor (Coque *et al.*, 1996). Además de ello, es necesaria también una correcta irrigación y fertilización, entre otros aspectos de manejo, para que, de esta forma, haya una conveniente producción y distribución de fotoasimilados además de una adecuada división y expansión celular para así obtener frutos de calibre comercial (Lakso, 2003).

Adicionalmente, el fruto del manzano está particularmente afectado por una fisiopatía denominada bitter pit, que consiste en la aparición de un moteado parduzco en la parte calicina del mismo, lo que ocasiona una lógica disminución del valor comercial del producto (Monge *et al.*, 1994).

El manzano se puede propagar por semillas, por injerto y también por estaca. A la reproducción sexual se recurre para obtener patrones francos y nuevas variedades. Sin embargo, comercialmente se propaga en forma vegetativa por injerto de yema (Agusti, 2004).

En invierno, esta especie entra en un estado de latencia llamado dormancia. Para salir de la dormancia e iniciar la brotación de primavera, las plantas necesitan, en invierno, cierto requerimiento de frío por debajo de 7,2°C, aunque existen grandes diferencias entre cultivares, con oscilaciones de requerimiento que van desde las 200 a 1400 horas de frío (Samson, 1991; Petri y Leite, 2008).

Producción y distribución del manzano en España

En España, la superficie cultivada de manzano ha experimentado un retroceso en los últimos años a favor de diferentes especies de hueso como el melocotonero (*Prunus persica* L. Batsch) y el cerezo (*Prunus avium* L.) (Iglesias *et al.*, 2007).

La producción nacional en 2008 fue de 642800 Tm y, en concreto, en Aragón fue de 156000 Tm. Por comunidades autónomas se produjo un descenso en la producción de esta especie; así, en Aragón disminuyó un 2,5 %, en Castilla y León un 19,4 %, en La Rioja un 2,4 % y en el resto de España un 3,5 %. Por el contrario, en Cataluña, principal productora, la producción total en la campaña 2008 fue de 391060 Tm lo que representa un incremento del 15,5 % respecto al 2007 (WAPA, 2008).

En España, la distribución geográfica indica una concentración muy importante en el Valle del Ebro, principalmente en Cataluña y Aragón, que aportan aproximadamente el 50 % de la superficie total cultivada (MARM, 2010). Prácticamente, la totalidad de las plantaciones se encuentran situadas en zonas de llanura y, por lo tanto, en condiciones caracterizadas por climas secos y calurosos en época estival, a los que el manzano presenta adaptación deficiente. Sin embargo, la innovación varietal de las últimas 2 décadas ha permitido una interesante renovación mediante la introducción de variedades mejor adaptadas tanto a las condiciones del clima como a las exigencias del consumidor (Iglesias *et al.*, 2007).

Exigencias edafoclimáticas del manzano

Gracias a la adaptación a un amplio rango de condiciones climáticas, diversos suelos y sistemas de cultivo, el manzano se cultiva extensamente en Europa, Norte y Sur de América, Nueva Zelanda, Australia y Asia. Aunque sus principales cultivares se encuentran, en gran número, en los países de clima templado (Schneider y Scarborough, 1980).

Aunque la gran variabilidad genética del género *Malus* le permite adaptarse a climas muy diversos, no cabe duda de que hay zonas con las condiciones climáticas óptimas para su mejor desarrollo, como lo son las zonas templadas o ligeramente frías (León, 1991). Sin embargo, es necesario el riego para lograr niveles productivos aceptables (Robinson, 2003).

Observaciones generales en diferentes áreas donde se desarrolla esta especie indican que los árboles de manzano pueden establecerse en un amplio rango de suelos. Sin embargo, las mejores condiciones edafológicas son suelos bien drenados,

aireados, profundos y con buena capacidad de retención de humedad (Barden y Neilsen, 2003).

La disponibilidad de agua durante el ciclo de cultivo es uno de los condicionantes fundamentales para la producción de manzanos en climas meridionales, lo que ha hecho restringir el cultivo a los valles de los ríos, zonas de regadíos o áreas con suficiente pluviometría. Al respecto, la capacidad de almacenamiento de agua de los suelos es un factor a considerar en el momento de evaluar zonas para su establecimiento, debido a las potenciales limitaciones en el crecimiento que pueden generar los suelos con inadecuada capacidad de almacenamiento de agua (Barden y Neilsen, 2003). Sin embargo, autores como Frederick y Lakso (2006) se atreven a señalar a las plantas de manzano como muy tolerantes a la sequía, aunque el anegamiento les resulta muy perjudicial.

Agua, nitrógeno, agricultura y medio ambiente

La búsqueda de incrementos en la productividad agrícola ha estado relacionada, en la mayoría de los casos, con una falta de conciencia en relación a los efectos ambientales que pueda causar dicha actividad, circunstancia que ha transformado progresivamente a la agricultura en uno de los principales factores de impacto ambiental, acción que parecía estar reservada de manera exclusiva a la industria.

Para lograr y mantener una elevada productividad de los cultivos, el uso del recurso hídrico al igual que la utilización de productos químicos tales como, fertilizantes, herbicidas y demás agroquímicos, se ha incrementado vertiginosamente durante los últimos años. Con ello, la actividad agrícola se ha transformado en un gran fuente de contaminantes y en el principal usuario de agua dulce del planeta, además de ser uno de los primordiales agentes causantes de la eutrofización ambiental, tanto por la contaminación del agua superficial como también por la de las fuentes subterráneas.

Es importante recordar que, durante los últimos 50 años, el formidable incremento de la productividad agrícola ha protegido al mundo de la escasez

devastadora de alimentos y del peligro de hambrunas en masa. La gestión del agua, tanto en la agricultura de secano como en la de regadío, ha sido decisiva para lograr ese incremento, además de que fue uno de los principales elementos de la revolución verde, basada en la aplicación de fertilizantes y en la utilización de variedades de gran rendimiento, lo que contribuyó a incrementar la productividad de los sistemas agrarios en alrededor del 100 % desde 1960 (FAO, 2003).

Aunque se cuestione la eficiencia de la agricultura de regadío en las zonas donde existe escasez de agua (Poste *et al.*, 1996), mundialmente se considera a ésta agricultura como uno de los iconos de la seguridad alimentaria, ya que a pesar de que sólo el 17 % de las tierras cultivadas a nivel mundial están bajo irrigación, aportan más del 40 % de los alimentos para consumo humano. A pesar de ello, la agricultura bajo riego es aún practicada, en muchas áreas del mundo, bajo una completa violación de los principios básicos de conservación y sostenibilidad (Ferreres y Soriano, 2007).

Durante las últimas décadas, se han desarrollado diversas tecnologías tendentes a mejorar el uso del agua en la agricultura, tales como: el establecimiento de sistemas de conducción y métodos de riego más eficientes. Mejoras que, indudablemente, han permitido aumentar la superficie regada y mejorar los rendimientos (Fuentes, 2003). Sin embargo, los cálculos de las necesidades hídricas se han basado en la siguiente premisa: para mantener la máxima productividad de los cultivos es necesario minimizar el estrés hídrico (Daniell, 1982). Así, la estrategia paradigmática de la irrigación, persistentemente, ha sido la de proveer suficiente agua de modo que los cultivos transpiren a su máximo potencial para así satisfacer sus requerimientos de evapotranspiración (ETc) a lo largo del ciclo productivo (Sekler *et al.*, 2003).

Dada la necesidad de manipular más eficientemente el recurso hídrico en áreas donde existe escasez de agua, todo con la finalidad de ahorrar agua o maximizar su productividad en función de cada litro utilizado (Barker *et al.*, 2003; Cai y Rosegrant, 2003), se han desarrollado, actualmente, ciertas formas de promover déficit hídricos bajo completa vigilancia. En este sentido, estrategias de riego desarrolladas en las dos

últimas décadas, como el riego deficitario controlado (RDC) y la desecación parcial del sistema radical (DPR), han logrado, en algunos casos, resultados favorables al incrementar significativamente la productividad del agua, afectando escasamente los rendimientos, o simplemente no han producido los efectos esperados, resultados que han sido altamente dependientes de la especie vegetal a la cual se ha aplicado (Chalmers *et al.*, 1986; Irving y Drost, 1987; Leib *et al.*, 2006).

Tales estrategias ponen de manifiesto que es posible implementar nuevos enfoques para lograr incrementar la productividad del agua de riego, principalmente en áreas donde ésta es escasa, permitiendo reducir así tanto su consumo como algunos efectos perjudiciales de las prácticas agrícolas actuales (Leib *et al.*, 2006). Por ello, es necesario entender detalladamente cómo responden las plantas, desde el punto de vista fisiológico, a potenciales hídricos bajos.

En nuestros días, los agricultores de las zonas áridas y semiáridas reciben, con frecuencia, asignaciones de agua por debajo de los requerimientos máximos de ET_c de sus cultivos. Tal hecho los ha obligado a asignar el recurso hídrico disponible a menores áreas de cultivo o a tener que regar la totalidad del área cultivada por debajo del 100 % de la ET_c (Feres y Soriano, 2007). En consecuencia, se ha estado investigando en una nueva estrategia de manejo del agua de riego en la que la aplicación de agua a los cultivos se realiza por debajo de los requerimientos máximos calculados, a lo largo de toda la estación de crecimiento. Esta práctica se denomina riego deficitario. La misma puede incrementar la productividad del agua o permitir desviar el agua ahorrada para usos alternativos, principalmente cuando el agua es un recurso limitado (English, 1990).

Por otro lado, el nitrógeno (N) considerado como el principal elemento mineral en el tejido vegetal, representa aproximadamente el 2 % del total de la materia seca de la planta y es constituyente de aminoácidos y nucleótidos (Miller y Cramer, 2004). El N también forma parte de coenzimas, clorofila, fitohormonas, proteínas estructurales o enzimáticas y otras moléculas, lo que indica que es un elemento implicado en todos los procesos metabólicos y de crecimiento vegetal (Lamsfus *et al.*, 2004).

Este elemento se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza; en la atmósfera se halla en forma molecular gaseosa (N_2) y representa alrededor del 78 % de su composición. La cantidad de N en la litosfera representa menos del 0,1 % de la misma y además se encuentra de forma muy estable en las rocas, por lo que no supone una entrada significativa de N inorgánico en el sistema suelo-planta. Por tanto, la mayor parte del N disponible para el crecimiento de las plantas proviene, en último término, de la atmósfera (Lamsfus *et al.*, 2004).

El ingreso del N al sistema biológico lo llevan a cabo un reducido número de algas y bacterias, unas de vida libre y otras en simbiosis con plantas superiores, por el proceso de fijación de N, según el cual, el N_2 es reducido por la enzima nitrogenasa que acepta electrones de donores fisiológicos (ferredoxina reducida) originando amonio (NH_4^+), que se asimila en forma de aminoácidos y amidas (Vitousek *et al.*, 1997).

La limitada biodisponibilidad de N y la alta dependencia del crecimiento de los cultivos de éste mineral ha propiciado que los agricultores utilicen el abonado masivo con nitrógeno, que proveniente casi en su totalidad de procesos industriales (Miller y Cramer, 2004). Ésta actividad ha acelerado claramente la tasa de fijación del N en los suelos, lo que ha duplicado la transferencia anual del vasto pero no disponible reservorio atmosférico hacia formas nitrogenadas biológicamente asimilables (Vitousek *et al.*, 1997). Desgraciadamente, la producción de los cultivos aprovecha este recurso adicional con una tasa de eficiencia muy baja, inferior al 50 %. Se calcula que el resto del N entra en la llamada cascada del N (Galloway *et al.*, 2003) y es transportado por el agua o el viento hasta lugares donde puede generar una secuencia de efectos negativos sobre los ecosistemas o sobre la población humana.

Se ha descrito ampliamente que el N es el elemento fertilizante que produce la respuesta más evidente en la planta; acelera su vida vegetativa, su desarrollo e induce, generalmente, un aumento de la producción (Marschner, 1995). En consecuencia, y por ser el elemento potencialmente más rentable de la fertilización, suelen aplicarse cantidades superiores a las necesarias con la finalidad de evitar, de este modo, el riesgo que suele suponer su déficit. Por tanto, los mayores aportes de N, dirigidos por

acciones antrópicas, están ligados a actividades relacionadas con el alza en la producción de alimentos. Faust (1989) y Marschner (1995), entre otros autores, señalan que el N es un elemento esencial para el crecimiento, desarrollo y productividad de los cultivos.

Cuando la vegetación deja de responder a las adiciones de N, se dice que el ecosistema alcanza un estado de “saturación de N”. En teoría, cuando un ecosistema está saturado de N y sus suelos, plantas y microorganismos no lo pueden seguir utilizando o reteniendo, todas las nuevas deposiciones del nutriente se dispersan a través del agua hacia cauces de ríos o se volatilizarán hacia la atmósfera (Vitousek *et al.*, 1997).

Conforme los iones NO_3^- , de cargas negativas, se lixivian, arrastran consigo iones de carga positiva como el calcio, magnesio y potasio. Así, las modificaciones en el ciclo del N, por las actividades humanas, disminuyen la fertilidad de los suelos pues aumentan la pérdida de calcio y otros nutrientes que son vitales para el crecimiento y productividad de las plantas (Vitousek *et al.*, 1997).

Las investigaciones sobre fertilización nitrogenada han sido y son en la actualidad muy abundantes. Sin embargo, se ha producido un cambio cualitativo en su orientación desde hace relativamente poco tiempo, ya que se ha pasado de la búsqueda de la máxima producción agrícola a una situación en la que se intenta compatibilizar la producción vegetal con el mínimo impacto ambiental provocado por la fertilización. Así, el producto de calidad debería ser entendido como aquel que, además de cumplir con los requisitos de comercialización exigidos reglamentariamente, ofrezca garantías en términos de seguridad alimentaria, que sean alimentos trazables, esto es, “rastreables”, que correspondan a métodos productivos respetuosos con el medio ambiente y, por supuesto, satisfagan las expectativas y necesidades de los clientes y del consumidor final.

Disminuir el incremento en la producción de los fertilizantes nitrogenados será un desafío difícil. Sin embargo, existen formas de incrementar la eficiencia en su uso y, por tanto, reducir el impacto ambiental que deriva de su aplicación. En este sentido, Dinnes *et al.* (2002) señalan que una manera de mejorar la eficiencia en el

uso de este elemento es balanceando la cantidad necesaria para obtener un óptimo crecimiento de las plantas, reduciendo así las pérdidas de NO_3^- hacia las aguas superficiales y subterráneas.

Implicaciones fisiológicas y agronómicas de la nutrición hídrica y nitrogenada

El agua de riego, es el principal factor limitante de la productividad de los cultivos (Abdoulkarim y Solmaz, 2009). La función que desempeña es de trascendental importancia para el crecimiento de las especies vegetales por afectar de manera directa o indirecta a la mayoría de los procesos fisiológicos de las plantas (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2001a).

En las plantas, el déficit de agua, puede manifestarse en los siguientes síntomas: disminución de la turgencia, reducción del tamaño celular, cierre de estomas, disminución de la capacidad fotosintética y desequilibrio hormonal, entre otros (Barceló *et al.*, 2005; Goday y Pagés, 2004) y, en casos de carencias muy acusadas, se puede llegar a la muerte de la planta. Por otro lado, el exceso de agua produce un nivel bajo de aireación en la rizosfera, condición que resulta igualmente en una alteración general del metabolismo; se inhibe el crecimiento, hay cierre de los estomas, reducción de la fotosíntesis, reducción de la absorción de agua y nutrientes y alteración del balance hormonal, entre otros (Kozlowski, 1984). Por ende, la adecuada hidratación de los tejidos es requisito imprescindible para el buen crecimiento de las plantas.

El agua participa de manera directa en el proceso de la fotosíntesis. En el complejo oxidante del agua del fotosistema II (*PS II*), la molécula de agua es escindida, de manera que el hidrógeno (H^+) se utiliza para la reducción del dióxido de carbono (CO_2) y la producción de azúcares, mientras que el oxígeno (O_2) es expulsado a la atmósfera. A pesar de esta intervención directa, el papel principal del agua como mediador de la fotosíntesis es indirecto: la disponibilidad de agua transpiratoria mantiene abierto los estomas, por lo que facilita la incorporación del CO_2 a las hojas, indispensable para la fotosíntesis (Medrano y Flexas, 2004).

Como se mencionó anteriormente, el déficit hídrico provoca en las hojas una pérdida de turgencia celular que, junto a la acción del ácido abscísico (ABA), cuya síntesis en las raíces aumenta con la sequía, son responsables del cierre de los estomas, lo que supone el lógico aumento de la resistencia estomática a la difusión de CO₂ hacia el estroma. Como consecuencia tiene lugar una disminución en la disponibilidad de CO₂ como aceptor último de electrones. En estas circunstancias se puede producir una acumulación excesiva de poder reductor (NADPH), lo que puede estimular una “sobreacumulación” de los compuestos intermediarios de la cadena de transporte de electrones, provocando un exceso de excitación de los centros de reacción de las clorofilas, lo que puede causar fotoinhibición y fotooxidación (Medrano *et al.*, 2007).

En definitiva, el déficit hídrico, provoca ajustes tanto estomáticos como no estomáticos que afectan a diversos procesos fotosintéticos. Las consecuencias son, por una parte, la reducción del gasto de agua y el incremento en la eficiencia en su uso y, por otra, la disminución de la asimilación de CO₂ y, por tanto, del crecimiento y la producción (Medrano *et al.*, 2007).

Por otra parte, el N es un elemento esencial para las plantas y únicamente son más abundantes que él, como constituyente de los tejidos vegetales, el carbono, el hidrógeno y el oxígeno. Por ello, se considera que el N, tras el déficit hídrico, es el principal factor que controla el crecimiento de las plantas siendo, en consecuencia, un elemento esencial para la producción agrícola (Faust, 1989; Marschner, 1995; Lamsfus *et al.*, 2004).

El papel del N como nutriente esencial y componente estructural de moléculas como la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (rubisco) y la clorofila, ha sido ampliamente documentado en varias especies vegetales (Volenec *et al.*, 1996; Makino y Osmond, 1991; Lattanzi *et al.*, 2004). Por tanto, la función principal del N en la productividad de los cultivos está íntimamente ligada a la fotosíntesis (Lawlor, 2002). A este respecto, se reconoce que el N puede ser un factor limitante del crecimiento y de la eficiencia fotosintética de las plantas, especialmente bajo condiciones de déficit, en las que aquellas tienden a disminuir su peso seco, el número de hojas y el área

foliar (Ciompi *et al.*, 1996). En el caso de la eficiencia fotosintética, puede limitarse al disminuir el contenido de rubisco y de clorofila en las hojas, así como la producción cuántica de la fotosíntesis. La correlación entre la concentración de N y la eficiencia fotosintética varía dependiendo del hábitat de la planta y de factores ambientales como la temperatura, la radiación y la disponibilidad del recurso hídrico (Evans, 1989; Toth *et al.*, 2002; Lamsfus *et al.*, 2004).

Agronómicamente, ambos factores: la irrigación y la fertilización nitrogenada, pueden afectar considerablemente la producción total de biomasa destinada a cosecha, y con ello la productividad de un cultivo. En este sentido, el rendimiento viene dado por la capacidad del árbol para acumular biomasa en los órganos reservados para la recolección, es decir en los frutos, y un incremento proporcional de la biomasa destinada a estos órganos garantiza un incremento del rendimiento (Peil y Galvez, 2005).

Es por ello que el agricultor tiene gran interés en que la mayor proporción de fotoasimilados se destine a los frutos. No obstante, existen límites a la fracción de fotosintetizados que pueden ser desviados a éstos, ya que las plantas necesitan utilizar cierta cantidad de fotoasimilados en los órganos restantes con la finalidad de mantener su capacidad productiva. Por tanto, el balance apropiado entre el aporte y la demanda de asimilados en una planta es de gran importancia para optimizar la producción y calidad del producto cosechado, y se puede obtener a través de una adecuada relación fuente - sumidero.

En vista de lo anteriormente planteado, y dado que el orden de prioridad de la demanda de fotoasimilados es función de la tasa de crecimiento (actividad del sumidero) y del tamaño del sumidero (número de frutos), incrementar la productividad del manzano a través del manejo eficiente del agua y del uso racional del N plantea un desafío dada la fuerte relación existente entre estos dos factores y el crecimiento y la actividad fotosintética de las plantas.

El déficit hídrico y la escasez de nitrógeno en las plantas

Las plantas regularmente experimentan escasez de agua en sus tejidos a causa del desfase hídrico existente entre hojas y raíces, prerequisite indispensable para que se produzca el flujo de agua en el continuo suelo-planta-atmósfera (Ehlers y Goss, 2003). Al respecto se puede asumir, con la debida prudencia conceptual, que el flujo de agua en las plantas se da como respuesta a un gradiente de presión establecido entre dos extremos, el suelo como fuente y la atmósfera como sumidero final (Gil-Pelegrín *et al.*, 2005).

Esta fuerza motriz se origina como consecuencia de la evaporación del agua desde las paredes celulares de las cavidades subestomáticas (Boyer, 1985) estableciéndose en este punto el cambio de fase líquida a fase de vapor (Larcher, 1995). La búsqueda del equilibrio entre ambas fases produce tensiones capilares en los espacios apoplásmicos de las paredes en contacto con la parte gaseosa, tensión que se transfiere a lo largo de la columna de agua como consecuencia de la cohesión entre las moléculas de agua y la rigidez de los vasos por los que circula (Steudle, 2001), de esta manera se transmite la tensión hidráulica de la atmósfera a lo largo de todo el vegetal (Gil-Pelegrín *et al.*, 2005).

Dependiendo de la disponibilidad hídrica, los estomas, a través de la regulación de su grado de apertura, pueden establecer cambios controlados, rápidos y reversibles en el valor de la resistencia total. Con ello, se altera de manera importante el flujo de transpiración, lo que permite mantener el potencial hídrico de la planta dentro de límites aceptables (Tyree y Sperry, 1988). Sin embargo, cuando el déficit hídrico comienza a tornarse severo y/o prolongado las plantas experimentan un estado de tensión que se asocia a consecuencias fisiológicas contraproducentes. Este estado de tensión es llamado estrés y su manifestación es altamente dependiente de la especie vegetal que se trate (Ehlers y Goss, 2003).

Desde el punto de vista ecofisiológico, el término déficit hídrico hace referencia a cualquier limitación en el suministro de agua a los tejidos que, dependiendo de su intensidad y duración, puede afectar al normal crecimiento y

desarrollo de las plantas, así como a sus principales funciones vitales (Medrano y Flexas, 2004).

El bajo potencial hídrico, causado por la deficiencia de humedad del suelo, es el factor que más limita la producción vegetal a escala mundial. De hecho, existe una elevada correlación entre la productividad de los diferentes ecosistemas y su precipitación característica (Medrano y Flexas, 2004).

En el conjunto de zonas cultivadas se estima que el rendimiento potencial de los cultivos se reduce en más del 70% debido a las limitaciones ambientales. De este porcentaje, el estrés hídrico constituye hasta un 45%, lo que da lugar a grandes pérdidas económicas en algunas regiones del mundo (Boyer, 1982).

De manera general, todas las plantas responden a señales ambientales y poseen mecanismos de respuesta similares (Bohnert y Jensen, 1996) y, aunque el umbral de tolerancia es variable (Sánchez-Díaz y Aguirreola, 2001b), en ocasiones el nivel del déficit hídrico puede sobrepasar los límites de adaptación (Hsiao, 1973).

Como las plantas son organismos multicelulares, la integración de todas las respuestas celulares, ante una situación de deficiencia hídrica, produce respuestas globales que pueden ser estudiadas a distintos niveles, a saber: 1. cambios fisiológicos, 2. adaptaciones morfológicas, 3. respuestas de desarrollo y 4. adaptaciones celulares. (Goday y Pagés, 2004).

Así, por citar algunos casos, en condiciones de deficiencia hídrica las hojas de las cepas de vid (*Vitis vinifera* L) reducen su intercambio gaseoso, lo que afecta el rendimiento y calidad de la cosecha (Schultz, 1996). Igualmente, en peral japonés (*Pyrus serotina* Rehd) se ha descrito el efecto negativo del estrés hídrico sobre el intercambio gaseoso y su influencia a su vez sobre la fotosíntesis (Behboudian *et al.*, 1994), aunque existe literatura que difiere con lo anteriormente expuesto al aseverar que los cambios en la conductancia estomática inducidos por el déficit hídrico no son, en primera instancia, el agente causal de la reducción de la fotosíntesis (Chaves, 1991; Chaves *et al.*, 2002).

En el caso del manzano, se han publicado resultados contradictorios con respecto al efecto del déficit hídrico en el comportamiento de algunas variables fisiológicas de esta especie (Mpelasoka *et al.*, 2001a; Zegbe *et al.*, 2007).

Por lo tanto, las respuestas al estrés hídrico pueden ser complejas e involucrar cambios deletéreos y/o adaptativos (Chaves *et al.*, 2002), y pueden variar de acuerdo a la especie, el genotipo, tiempo de exposición y severidad del estrés, e inclusive al estadio de desarrollo de la planta (Bray, 1997).

1. El estrés hídrico y las modificaciones fisiológicas

Como se ha mencionado, la reacción inicial de las plantas ante un déficit hídrico es la modificación de la conductancia de los estomas por la reducción de su apertura y, como consecuencia, se disminuye la salida de agua por efecto de la transpiración (Barceló *et al.*, 2005). Sin embargo, el cierre de los estomas tiene consecuencias complejas que requieren de ajustes en la respiración, fotosíntesis, flujos de iones y agua, pudiendo sobrevenir una fotoinhibición (Goday y Pagés, 2004). Por lo tanto, el conservar el potencial de turgencia de las hojas sobre cierto nivel crítico es particularmente necesario para mantener el crecimiento y la apertura estomática durante el período de sequía (Salisbury y Ross, 2000).

Numerosas especies de plantas, sin embargo, son incapaces de regular el potencial de presión bajo condiciones de escasez de agua. Así, decrece el turgor celular y se afecta la conductancia estomática como consecuencia del cierre parcial o total de los estomas (Acevedo *et al.*, 1971).

De esta forma, el cierre de los estomas es el mecanismo más utilizado por las plantas para mantener la turgencia de las hojas y la tasa de transpiración dentro de límites hidráulicos aceptables, lo cual ha quedado demostrado por la correlación negativa existente entre la conductancia estomática y la resistencia al movimiento de agua a través del sistema suelo-planta-atmósfera (Saliendra *et al.*, 1995; Solari y DeJong, 2006).

Por lo anteriormente expuesto, el control estomático ha sido identificado como uno de los principales procesos fisiológicos afectados bajo condiciones de estrés hídrico (Hsiao y Acevedo, 1974). Esto conlleva, entre otros aspectos, a una disminución de la tasa de transpiración, lo que limita la velocidad de asimilación del dióxido de carbono (CO_2), y supone, invariablemente, una menor producción de biomasa (Chaves, 1991). Sin embargo, esto no significa necesariamente una menor productividad (Boland *et al.*, 1993).

Farquhar y Sharkey (1982), en un estudio sobre conductancia estomática y fotosíntesis, concluyeron que la limitación estomática de la fotosíntesis a consecuencia del estrés hídrico es usualmente leve. Contrario a ello, Tan y Buttery (1982) describieron que reducciones de la conductancia estomática de un 28% causan disminución de la fotosíntesis de un 78%, en comparación a las plantas regadas de acuerdo a sus exigencias.

Por otro lado, se ha demostrado que en kiwi (*Actinidia chinensis* L.) el estrés hídrico reduce la fotosíntesis sin afectar la concentración interna de CO_2 , lo que sugiere que el estrés interviene directamente en ciertos procesos bioquímicos (Chartzoulakis *et al.*, 1993).

Para comprender el efecto del estrés hídrico sobre la regulación fotosintética es necesario recordar que la fotosíntesis es un proceso complejo, que implica la coordinación de diferentes “subprocesos” concatenados e interrelacionados que pueden ser agrupados didácticamente, según Medrano y Flexas (2004), en cinco subprocesos imprescindibles: adquisición de CO_2 a través de los estomas, como sustrato para la elaboración de azúcares; captación de luz por los complejos clorofila-proteína; síntesis de fosfato de nicotinamida-adenina dinucleótido (NADPH) a partir de la cadena de transporte de electrones cloroplástica, propiciada por la luz adsorbida; síntesis de adenosín trifosfato (ATP) catalizada por la ATPasa cloroplástica, y promovida por el gradiente de pH transticoloidal generado por la cadena de transporte electrónico; y finalmente, síntesis enzimática (mediante el ciclo de Calvin) de azúcares a partir de CO_2 adquirido, con gasto del NADPH y el ATP generado.

Aparentemente, el estrés hídrico induce una limitación estomática a la adquisición de CO₂ (Barceló *et al.*, 2005), lo que conlleva un incremento de la fotorrespiración debido a la doble función carboxilasa-oxidasa de la rubisco, lo que a su vez reduce la tasa de fotosíntesis (Medrano y Flexas, 2004).

Se ha observado que la capacidad de regeneración de la rubisco está afectada por un estrés hídrico suave, pero no su eficiencia de carboxilación que, viene a su vez, está determinada por la actividad de la rubisco. Por el contrario, al incrementarse la severidad del estrés, se reduce la eficiencia de carboxilación. Respuesta que puede ser debida a incrementos de la resistencia del mesófilo, y no a la inhibición de la actividad de la rubisco (Loreto *et al.*, 2003; Maroco *et al.*, 2002; Centritto *et al.*, 2003).

A pesar de que la fotorrespiración es considerada como un proceso bioquímico generador de pérdidas en las plantas C3, por disminuir la eficiencia fotosintética (Mathews *et al.*, 2002), se ha demostrado que puede actuar como un mecanismo fotoprotector, evitando la fotoinhibición en condiciones en las que el exceso de radiación va unido al estrés hídrico, ya que la fotorrespiración, como la fotosíntesis, consumen ATP y NADPH, permitiendo el mantenimiento funcional de la cadena de transporte de electrones (Kozaki y Takeba, 1996).

El incremento de la fotorrespiración permite mantener intacto el funcionamiento de los fotosistemas que, de otro modo, se inactivarían debido al exceso de radiación y a la disminución del consumo de NADPH y ATP, lo que permite la rápida recuperación de la fotosíntesis tan pronto como desaparezca el estrés hídrico y los estomas vuelvan a abrirse (Medrano y Flexas, 2004).

Diferentes investigaciones sugieren que la reducción de la tasa fotosintética está más asociada a la disminución de la eficiencia del *PSII* y al metabolismo del mesófilo que a la reducción de la conductancia estomática, particularmente cuando la sequía está asociada a la alta luminosidad y temperatura (Lawlor y Cornic, 2002; Lu y Zhang, 1999).

Bajo condiciones de estrés hídrico moderado, la tasa de transporte de electrones disminuye progresivamente, lo que es debido, al menos en plantas aclimatadas a condiciones de alta radiación, a un incremento en la actividad fotoprotectora del ciclo de las xantofilas, que disipa térmicamente la energía absorbida, reduciendo así la cantidad de energía que promueve la cadena de transporte de electrones. Sólo en condiciones de estrés severo la disminución de la tasa de transporte de electrones puede ir asociado a fenómenos de fotoinhibición y disminución de la captación de luz (Medrano y Flexas, 2004).

En cuanto a la disminución de la captación de luz, a consecuencia del estrés hídrico, no se ha descrito una reducción del número de complejos antenas funcionales en las hojas. Solo bajo condiciones de estrés severo, acompañado de elevada radiación, se produce ocasionalmente la fotoinhibición, que puede llevar a la destrucción oxidativa de los fotosistemas y disminuir la captación de luz (Medrano y Flexas, 2004).

Se ha demostrado que bajo condición de estrés hídrico suave se induce la inactivación de la ATPasa del cloroplasto y con ello la síntesis de ATP (Tezara *et al.*, 1999). Estos autores han sugerido que la fotosíntesis en condiciones de sequía está más limitada por la disminución de la síntesis de ATP que por el cierre estomático. Sin embargo, este punto de vista resulta muy controvertido, ya que la mayor parte de autores consideran que el cierre estomático constituye la principal limitación de la fotosíntesis en condiciones de estrés hídrico suave o moderado (Cornic, 2000; Flexas y Medrano, 2002). En cualquier caso, parece que la síntesis de ATP es un proceso más sensible al estrés hídrico que la absorción de luz y que el transporte de electrones cloroplástico.

Algunas plantas han desarrollado mecanismos como el de la acumulación activa de solutos (Salisbury y Ross, 2000). Estos solutos son moléculas compatibles de bajo peso molecular, eléctricamente neutras, muy solubles y que aunque se acumulan en altas concentraciones no afectan el metabolismo celular (Bray, 1997). Su función es reducir el potencial osmótico sin que lo

haga la turgencia celular, lo que permite la elongación de las células y facilita la conductancia estomática a potenciales hídricos más bajos (Romero *et al.*, 2004). Además, mantiene la fotosíntesis y favorece la supervivencia a la deshidratación (Turner y Jones, 1980; Schonfeld *et al.*, 1988). Este proceso es conocido como ajuste osmótico (Morgan, 1984; Barceló *et al.*, 2005), y en el que además de a la acumulación activa de solutos, puede ser atribuido a cambios en la elasticidad del tejido foliar (Weatherly, 1970). Estos osmoprotectores se acumulan principalmente en el citosol, en cloroplastos y en otros orgánulos que en conjunto ocupan menos del 20% del volumen total celular (Rontein *et al.*, 2002).

En plantas que acumulan osmolitos de forma natural, estos pueden alcanzar concentraciones de 6 a 60 mM. Sin embargo, su concentración aumenta durante la exposición al estrés llegando a alcanzar 200 mM, concentración osmóticamente significativa (Rhodes y Hanson, 1993; Bohnert *et al.*, 1995).

Los osmolitos pueden clasificarse en los siguientes grupos: azúcares no reductores (Trehalosa, sacarosa, fructanos), polioles (pinitol, glicerol, anonitol, sorbitol, manitol), compuestos de amonio cuaternario o derivados de aminoácidos (Prolina, glicina, glicina-betaína, etc.), iones K^+ , y compuestos azufrados (β -dimetilsulfoniopropionato y taurina) (Yancey *et al.*, 1982; Le Rudulier *et al.*, 1984; Mc Cue y Hanson, 1990; Burg y Ferraris, 2008).

Por otro lado, el ajuste elástico consiste en que las paredes de las células vegetales presentan propiedades plásticas y elásticas que permiten regular el potencial de turgencia en células vivas (Weatherly, 1970). La elasticidad del tejido foliar viene condicionada por diversos factores: el tamaño celular, la composición química de las paredes, la pérdida de agua apoplástica, la edad de la hoja y el potencial de turgencia (Brett y Waldron, 1990).

Los componentes de la pared celular y el grado de especialización de los mismos son los que determinan la elasticidad o rigidez del tejido. La pared celular primaria se compone principalmente de microfibrillas de celulosa rodeadas por una fracción matricial, formada en su mayoría por hemicelulosa

y polisacáridos pépticos. La celulosa aporta la estructura básica y supone entre un 9 y 25% de los componentes de la pared celular primaria (Salisbury y Ross, 2000). La fracción matricial actúa modificando la estructura básica. Mientras que las pectinas (10- 25%) aportan una mayor elasticidad a las paredes celulares (Robichaux *et al.*, 1986).

La hemicelulosa se compone mayoritariamente de largas cadenas de xiloglucano que se unen mediante puentes de hidrógeno a las cadenas de celulosa, formando una red que proporciona una cierta rigidez a la pared celular (Fry, 1989). Sin embargo, variaciones en composición y organización durante el crecimiento celular hacen que la red celulosa-hemicelulosa, sea considerada extensible (Hayashi *et al.*, 1984).

Las paredes se endurecen y adquieren mayor rigidez por adición de otros componentes, que forman la pared celular secundaria. En la pared secundaria, el porcentaje de polisacáridos matriciales, sobretodo de pectinas, es reducido y el contenido en celulosa se ve incrementado. Por otra parte, la adición de sustancias como la lignina, cutina o ceras, provocan importantes modificaciones (Bret y Waldron, 1990).

Aunque la relación entre el déficit hídrico y la elasticidad no es demasiado clara, se puede decir que el incremento de la elasticidad tisular permite el mantenimiento de la turgencia a potenciales hídricos bajos y considerarse así un mecanismo de tolerancia (Weatherly, 1970).

En el caso del manzano, se ha demostrado que sus hojas tienen la habilidad de mantener la turgencia celular a niveles que permiten mantener el crecimiento y la apertura estomática aun bajo condiciones de estrés hídrico gracias a la acumulación activa de solutos, donde el sorbitol es considerado como uno de los agentes osmoprotectores más importantes frente al estrés (Wang *et al.*, 1996).

Igualmente, se ha demostrado que bajo condiciones de deficiencia hídrica la elasticidad del tejido foliar del manzano incrementa, lo que permite a la célula mantener el turgor bajo estas condiciones de estrés (Frederick y Lakso, 2006).

2. El estrés hídrico y las adaptaciones morfológicas

La adaptación es un concepto evolutivo que hace referencia a modificaciones genéticas o morfológicas que favorecen la supervivencia y crecimiento de las especies vegetales y, con ello, se busca compensar las disminuciones de la actividad fisiológica inducidas por el estrés (Medrano y Flexas, 2004).

Los cambios en las características foliares son quizás las adaptaciones morfológicas más importantes que ocurren en plantas sometidas a situaciones ambientales estresantes como la deficiencia hídrica (Esau, 1977). Sin embargo, el crecimiento de cada órgano puede ser afectado de forma diferencial, todo con la finalidad de mejorar la eficiencia en el uso del agua (Westgate y Boyer, 1985).

Condiciones de escasez hídrica continua no sólo inducen modificaciones morfológicas en las estructuras de las plantas sino que también causan variaciones a nivel anatómico, como por ejemplo cambios en la densidad estomática (Fraser *et al.*, 2009); tales modificaciones están estrechamente asociadas con la fisiología de la planta (Ashton y Berlyn, 1994).

Las especies que se desarrollan en ambientes de baja disponibilidad hídrica presentan adaptaciones tales como incremento de la succulencia de tejidos, del grosor de la cutícula, de la densidad de tricomas y de la reducción en el tamaño de las hojas o de su tasa de crecimiento (Lindorf *et al.*, 1991). Sin embargo, en algunos casos, los bajos potenciales hídricos promueven el crecimiento radical comparativamente con el crecimiento de la parte aérea (Gales, 1979).

Es evidente que si las pérdidas de agua se producen principalmente a través de la superficie foliar, cuanta más superficie de hoja haya se darán mayores

pérdidas potenciales, por lo que, la reducción de la superficie transpiratoria establece un buen control de las pérdidas (Repetto-Giavelli *et al.*, 2007).

Adicionalmente se ha observado que, en condiciones de sequía, algunas especies cambian activamente la orientación de las hojas y brotes con respecto a la radiación incidente, lo que implica una menor tasa de transpiración por unidad de superficie (Nobel, 1995). Sin embargo, se trata de un mecanismo adaptativo que presentan únicamente algunas especies, por lo que no puede ser considerado como una respuesta generalizada e inmediata al estrés hídrico. Solo cuando el estrés hídrico es muy severo las hojas de cualquier especie aumentan el grado de inclinación de manera pasiva, debido al marchitamiento (Medrano y Flexas, 2004).

El enrollamiento o pliegue de la hoja también contribuye a la reducción de la transpiración, con ello la planta busca reducir la superficie expuesta (Blum, 1989), al igual que la abscisión prematura de hojas y frutos (Goday y Pagés, 2004).

Otro aspecto que contribuye a reducir la pérdida de agua por transpiración, bajo condiciones de déficit de agua, es la reducción de la transpiración cuticular. Como se mencionó anteriormente, los estomas son la principal vía de intercambio gaseoso de las plantas (Barceló *et al.*, 2005). Sin embargo, existe una cierta tasa de transpiración incluso cuando los estomas están completamente cerrados, la transpiración cuticular (Sánchez-Díaz y Aguirreolea, 2001a).

La transpiración cuticular puede representar hasta el 50% del total de la transpiración en algunas mesófilas o tan solo un 2% en el caso de algunas xerófitas (Levitt, 1980). Por lo tanto, un mecanismo para evitar la salida excesiva de agua consiste en reducir la tasa de transpiración cuticular.

La cutícula es una cubierta polimérica extracelular, depositada en la parte externa de la pared celular (Martin y Juniper, 1970). Mayoritariamente está compuesta por una matriz polimérica de cutina, compactada y estabilizada

mediante ceras cuticulares que forman agregados sólidos y parcialmente cristalinos (Schreiber y Riederer, 1996).

En experimentos de estrés hídrico a corto plazo se ha observado un incremento de la resistencia cuticular por la reducción del contenido hídrico foliar, que causa una desecación de la cutícula (Dubé *et al.*, 1975); dicha desecación induce cambios estructurales en la cutícula que reducen su permeabilidad al vapor de agua (Slavick, 1958). Igualmente, se han observado incrementos en la deposición de cera epicuticular a consecuencia de la deficiencia hídrica, describiéndose además que la tasa de transpiración cuticular se incrementa cuando se eliminan las ceras epicuticulares (Clark y Levitt, 1956).

Existen trabajos que relacionan la composición de la cutícula con las tasas de transpiración cuticular en diferentes especies de diversas procedencias (Bengston *et al.*, 1978; Schreiber y Riederer, 1996).

Como se ha mencionado, la densidad estomática es otro importante parámetro ecofisiológico que afecta el intercambio gaseoso. A menor cantidad de estomas por unidad de área se puede incrementar la eficiencia del uso del agua debido a la disminución de las vías de difusión del agua (Ferris *et al.*, 1996). Inclusive, bajo condiciones de deficiencia hídrica, las plantas de hojas hipoestomáticas, como es el caso del manzano (Green y McNaughton, 1997) tienen la ventaja de tener un mayor control del intercambio gaseoso, en comparación a las anfiestomáticas por tener estomas sólo por una cara de la hoja (Parkhurst, 1978).

Según lo anteriormente expuesto, las plantas poseen la capacidad de reducir, a corto plazo, el gasto de agua a través del control de la apertura y cierre estomático. Sin embargo, a largo plazo pueden modificar el desarrollo y la morfología de los estomas en función a las condiciones ambientales, a pesar del evidente control genético de la densidad estomática (Nadeau y Sack, 2002, 2003; Hetherington y Woodward, 2003; Wang *et al.*, 2007). En este sentido, diversos estudios han demostrado que la densidad estomática es afectada por

la disponibilidad hídrica del suelo (Bañón *et al.*, 2004; Sekiya y Yano, 2008; Xu y Zhou, 2008).

3. El estrés hídrico y las respuestas de desarrollo

Numerosas investigaciones afirman que el déficit hídrico produce cambios significativos en el crecimiento vegetativo de las plantas (Schultz y Matthews, 1993; Poni *et al.*, 1993).

En este sentido, podría pensarse que el estrés hídrico, al reducir la síntesis de fotoasimilados, induce la reducción del crecimiento de los tejidos en condiciones de sequía. Sin embargo, el umbral de estrés que induce la reducción del crecimiento suele ser simultáneo o incluso anterior al umbral que induce reducciones de la conductancia estomática y/o de la fotosíntesis (Hsiao, 1973). Ello sugiere que el estrés hídrico inhibe directamente algún mecanismo de crecimiento celular (Medrano y Flexas, 2004).

El crecimiento vegetal es el resultado de la proliferación masiva e irreversible células producto de las divisiones meristemáticas y de la elongación subsecuente de las células jóvenes (Neumann, 2008). A este respecto, se menciona que la extensión celular es altamente dependiente de cambios biofísicos, en que se incluyen el ablandamiento regulado de las membranas celulares primarias y el incremento subsecuente de la presión de turgencia generada por la absorción de solutos y de agua a las células (Neumann, 1995; Cosgrove, 1997), consideración que es actualmente cuestionada debido a que se ha demostrado que la magnitud del crecimiento celular así como su inhibición por el déficit de agua se regula por una serie compleja de procesos metabólicos controlados genéticamente, más que por una simple respuesta física dada por la disponibilidad de agua (Fan *et al.*, 2006; Ma y Bohnert, 2007).

Hsiao (1973) y Achard *et al.* (2006) entre otros, señalan que una de las respuestas primarias de las plantas al déficit hídrico es la reducción del crecimiento de la parte aérea. Esta respuesta puede beneficiar la supervivencia

de la planta ya que, al limitar progresivamente el área de la hoja, se disminuye la pérdida de agua por evapotranspiración de un suelo cuyas reservas de agua son limitadas. Además, la producción fotosintética de azúcares puede estar restringida bajo déficit de agua al igual que la absorción de elementos minerales por la raíz: la inhibición del crecimiento de la hoja puede entonces permitir la desviación de solutos esenciales para el crecimiento a funciones como el ajuste osmótico y el mantenimiento del turgor (Neumann, 2008).

Así, se ha descrito que la imposición de un estrés hídrico moderado a plantas de manzano puede dar lugar rápidamente a disminuciones del crecimiento, probablemente a consecuencia de la inhibición de la extensión celular (Serpe y Matthews, 1992; Chazen y Neumann, 1994).

La inhibición del crecimiento aéreo en respuesta al déficit hídrico puede, por lo tanto, prolongar el período de disponibilidad del agua del suelo y de supervivencia de la planta y considerarse como una respuesta de adaptación (Neumann, 1995; Achard *et al.*, 2006). Sin embargo, este tipo de respuesta podría ser ciertamente contraproducente debido a que puede ocasionar limitaciones potenciales de la producción (Ehlers y Goss, 2003). En tales casos, el desarrollo de variedades capaces de mantener un crecimiento adecuado durante períodos de deficiencia hídrica puede ser ventajoso para la producción vegetal bajo tales condiciones de estrés (Neumann, 1997).

El crecimiento de las raíces al igual que de la parte aérea, puede estar afectado por la falta de disponibilidad de humedad del suelo. Por lo tanto, las variaciones en la profundidad, extensión y profusión de las raíces son una respuesta muy común al déficit hídrico (Medrano y Flexas, 2004). Aunque esta estrategia, según Levitt (1980), es altamente dependiente del tipo de planta: las plantas ahorradoras de agua o las plantas gastadoras.

En las plantas ahorradoras, la estrategia de reducción consiste en la reducción de la superficie radical y en disminuir su permeabilidad, además de incrementar la resistencia hidráulica para disminuir el flujo hídrico hasta la copa. En cambio, la estrategia de las plantas gastadoras es la contraria, evitan

la sequía mediante el incremento de la absorción de agua, lo que permite mantener mayor tasa de transpiración y, en consecuencia, el mantenimiento de fotosíntesis. Estas plantas tienen resistencias hidráulicas mucho menores que las ahorradoras. La absorción se mantiene al incrementar la superficie radical, pero no la aérea. Por tanto, cada unidad de superficie foliar está abastecida por más unidades de superficie radical. Esto conlleva a un agotamiento de recursos más rápido, que en ausencia de una disminución de la transpiración lleva a la marchitez (Levitt, 1980).

4. El estrés hídrico y las adaptaciones celulares

El déficit hídrico conlleva, entre otros aspectos, a una serie de cambios bioquímicos y moleculares que afectan negativamente el desarrollo y productividad de las plantas (Wang *et al.*, 2001).

Cada especie de planta varía en su sensibilidad y respuesta a la disminución del potencial hídrico celular, aunque se sabe que los vegetales han adquirido la capacidad de percibir, señalar y responder a la deficiencia de humedad (Bohnert *et al.*, 1995).

En este sentido, la pérdida de volumen y turgencia celular o la concentración de solutos producidos por la deficiencia hídrica, altera la conformación de proteínas de la pared y membrana plasmática de la célula, activando rutas de transducción que dan lugar a la expresión de determinados genes, con ello se consigue así transformar el fenómeno físico de la falta de agua en una respuesta bioquímica (Bray, 1993; Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 1997; Zhu *et al.*, 1997). Por lo tanto, muchas de las condiciones ambientales adversas ejercen su efecto negativo, al menos en parte, generando a su vez un estrés oxidativo, que puede causar la desnaturalización de proteínas estructurales y funcionales (Smirnoff, 1998).

No todos los genes inducidos por el estrés lo hacen bajo las mismas condiciones ni en los mismos tipos celulares por lo que, aparentemente, se desarrollan diferentes mecanismos de señalización (Goday y Pagés, 2004).

Estos mecanismos son poco conocidos, pero se sabe que el ABA se acumula en respuesta al fenómeno físico de la deshidratación e induce la expresión de ciertos genes relacionados con el déficit hídrico (Bray, 1993, 1997; Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 1997).

Sean cuales fueren las vías de señalización, el estrés hídrico tiene que, en última instancia, afectar la cantidad o la actividad de factores de transcripción que interaccionan con los elementos *cis* (secuencias activas) de los genes de respuesta al estrés. A partir de ahí se produce la síntesis de proteínas y enzimas muy diversas, algunas de que tienen funciones protectoras conocidas contra la desecación, mientras que otras son de función aún desconocida (Goday y Pagés, 2004).

Es ampliamente conocido que la síntesis de ABA en las raíces aumenta en respuesta al desabastecimiento hídrico del suelo (Sharp y LeNoble, 2002). Además, la sensibilidad de los estomas al ABA puede cambiar en función de las condiciones ambientales y del estado propio de la planta, dependiendo de factores de aclimatación y adaptación. Esta sensibilidad puede estar modulada por factores muy diversos, tales como el potencial hídrico de las hojas, estado nutricional de las plantas, pH del flujo del xilema, y de otras hormonas vegetales como la citoquinina (Medrano y Flexas, 2004).

Este aumento en la concentración de ABA en la hojas de las plantas en respuesta al estrés hídrico permitió proponer la idea de que esta fitohormona era un mediador en la respuesta a la sequía (Goday y Pagés, 2004).

Al respecto, se ha prestado atención especial a la posibilidad de que el ABA producido por las raíces sea causante, en parte, de la inhibición del crecimiento de los brotes bajo estas circunstancias (Gowing *et al.*, 1990), mientras que, a la vez, su influencia en el mantenimiento de la elongación de las raíces bajo condiciones de sequía sea a través de la inhibición de la producción de etileno (Sharp y LeNoble, 2002; Spollen *et al.*, 2000), aunque, Achard *et al.* (2006) y Djakovic-Petrovic *et al.* (2007), descubrieron la existencia de ciertas proteínas nucleares, las DELLA, que están implicadas en

un mecanismo de inhibición del crecimiento vegetal bajo condiciones de estrés hídrico.

Los motivos por que el ABA actúa de manera diferente en la raíz que en la parte aérea, promoviendo el crecimiento en un caso e inhibiéndolo en el otro, no se han elucidado aún. Aparentemente, el cese del crecimiento viene inducido por un aumento en la proporción de moléculas tensas, fuertemente unidas, de hemicelulosa, que disminuyen la extensibilidad de la pared. Existen indicios de que la enzima responsable de ligar dichas moléculas en respuesta al estrés es la peroxidasa, aunque las evidencias son aún escasas (Medrano y Flexas, 2004).

Las investigaciones sugieren que la xiloglucán endotransglicosilasa (XET), enzima que es capaz tanto de “ligar” como de “liberar” las moléculas de hemicelulosa, está relacionada con el mantenimiento del crecimiento radical en condiciones de estrés hídrico debido a que se ha observado que la actividad de la XET aumenta en las raíces bajo estrés hídrico (Wu y Cosgrove, 2000; Wu *et al.*, 1994).

Parece ser que el incremento de la actividad de la XET está vinculada a la acumulación de ABA en las raíces, aunque recientemente se ha sugerido el papel de otras enzimas, las extensinas, en el mantenimiento del crecimiento radicular a bajo condiciones de estrés hídrico (Medrano y Flexas, 2004).

En definitiva, el déficit hídrico, además de provocar ajustes en el crecimiento y en las relaciones hídricas, causa importantes modificaciones en el conjunto de procesos que conducen a la asimilación de CO₂.

Junto a los efectos directamente relacionados con el cierre estomático, tiene lugar limitaciones no estomáticas que afectan a diversos procesos fotosintéticos. Las consecuencias son: por una parte la reducción del gasto de agua y el incremento de la eficiencia en su uso y, por la otra, la disminución de la asimilación de CO₂ y, por tanto, del crecimiento y de la producción (Medrano *et al.*, 2007).

Por otro lado, las plantas bajo condiciones de escasez de N no expresan totalmente su potencial genético, manifestando además, alteraciones morfológicas y fisiológicas que, igualmente, repercuten en última instancia sobre el crecimiento (Evans, 1989).

Se ha demostrado que plantas de manzano cultivadas en ambientes deficientes en N presentan restricciones en la tasa de asimilación neta de CO₂, a consecuencia directa del decrecimiento de la actividad de la rubisco y de otras enzimas fotosintéticas (Cheng y Cheng, 2004). Por otro lado, los cloroplastos además de ser perjudicados funcionalmente por la deficiencia de N son afectados en su tamaño y composición (Lawlor, 2002).

En general, como el N foliar decrece, se observa con frecuencia una disminución tanto en la concentración de pigmentos cloroplásticos como en la síntesis de enzimas, especialmente la rubisco (Terashima y Evans, 1988). En este sentido, se ha señalado que la limitación de N afecta de manera más acentuada la cantidad de N desviado a proteínas solubles, correspondientes al ciclo de Calvin, que a los tilacoides (Evans, 1989), lo que demuestra que la deficiencia de N afecta más a la capacidad de asimilación de CO₂ que a la capacidad de transporte de electrones (Cruz *et al.*, 2003).

El estrés generado por la deficiencia de N puede afectar la distribución de asimilados y ocasiona, generalmente, mayor traslocación de los carbohidratos disponibles hacia el sistema de raíces, lo que resulta en un incremento en la relación parte radical/parte aérea (Ingestad, 1979). Además, la menor utilización de asimilados por la planta promueve mayor desvío de carbono para la formación de almidón (Rufty *et al.*, 1988) y, al ser excesiva su acumulación en la hoja, la fotosíntesis puede estar seriamente afectada, ya que se dificulta la llegada del CO₂ a los sitios de carboxilación de la rubisco (Makino, 1994).

El efecto de la deficiencia de N sobre la acumulación de azúcares solubles ha generado resultados poco concluyentes. En tomate se ha descrito la acumulación de sacarosa (Guidi *et al.*, 1998) y, sin embargo, Wang y Tillberg (1996), en la misma especie, observaron aumentos en los niveles de glucosa y fructosa, aunque no de sacarosa. Entre tanto, en el tejido foliar del manzano, las limitaciones de nitrógeno

conducen a la acumulación de almidón, pero no a la de carbohidratos solubles (Cheng y Cheng, 2004).

Hay que resaltar que la acumulación de glucosa, fructosa (Cruz, 2001) y sacarosa (Sheen, 1990) se ha relacionado con la disminución de la actividad fotosintética de las plantas bajo deficiencia de N, dada la inhibición de algunas de las enzimas del ciclo de Calvin. Esta inhibición, que ocurre a nivel de represión del código genético, tiene como objetivo ajustar la tasa de asimilación de CO₂ en función a la demanda de carbohidratos por los diferentes órganos de la planta en condiciones de deficiencia de N (Jang y Sheen, 1994). Por tanto, algunos de los efectos de la deficiencia de N en el desarrollo vegetal parecen estar relacionadas con la relación C/N en los tejidos, inducida por la presencia misma de carbohidratos libres (Hermans *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2007).

Deficiencia hídrica, nitrógeno y la calidad del fruto

El riego en el manzano, como en todos los cultivos, juega un papel fundamental en el rendimiento y calidad del fruto. Un adecuado suministro hídrico implica que las cantidades proporcionadas, deben estar de acuerdo a las necesidades del cultivo de manera se obtenga un apropiado desarrollo vegetativo y reproductivo. Sin embargo, en la búsqueda por mejorar la eficiencia de uso del agua, en los últimos años, ha habido un creciente interés en la aplicación de técnicas de riego conducentes a reducir la cantidad de agua aplicada por debajo del máximo utilizado por el cultivo, permitiendo un estrés moderado con el mínimo impacto en los rendimientos y calidad de los frutos.

Al respecto se señala que los frutos de manzano obtenidos bajo deficiencia hídrica son más firmes que los frutos de plantas regadas al 100% de su demanda de transpiración debido a que al ser de menor tamaño, presentan mayor densidad celular (Ebel *et al.*, 1993; Volz *et al.*, 2003). Además, aparentemente, la deficiencia hídrica induce una mayor acumulación de materia seca en comparación a frutos obtenidos de árboles adecuadamente regados (Mills *et al.*, 1997; Leib *et al.*, 2006), como consecuencia de que, proporcionalmente, la carga de fotoasimilados conducida a los

frutos bajo riego deficitario es mayor, en comparación a los frutos obtenidos de plantas adecuadamente regadas (Ebel *et al.*, 1993).

En este sentido, estudios en manzano describen un incremento en la concentración de SST como respuesta a la deficiencia hídrica (Proebsting *et al.*, 1984; Irving y Drost 1987; Ebel *et al.*, 1993; Mpelasoka *et al.*, 2000). Sin embargo, en especies como la vid se han descrito resultados como la ausencia de efecto de los niveles de humedad del suelo sobre la acumulación de azúcares en las bayas (dos Santos *et al.*, 2003), o resultados completamente confrontados como el incremento (Schultz, 1996; Lopes *et al.*, 2001), o decrecimiento de esta variable inducidas por los niveles de irrigación (Pire y Ojeda, 1999).

Al contrario que para los SST, el efecto del déficit hídrico sobre la acidez valorable en frutos de manzano es menos claro. Mientras que unos estudios describen la reducción de la acidez valorable en respuesta al déficit hídrico (Guelfar-Reich *et al.*, 1974; Proebsting *et al.*, 1984), otros no han descrito efectos (Irving y Drost, 1987; Mpelasoka *et al.*, 2000). Además, se ha señalado que los frutos de manzano provenientes de plantaciones manejadas bajo esquemas de estrategias de riegos deficitario tienen mayor vida útil durante el almacenamiento debido a que se reduce su pérdida de humedad (Kilili *et al.*, 1996b; Mpelasoka *et al.*, 2000).

Un aspecto importante referente a la calidad de los frutos de manzanos es la aparición de desórdenes fisiológicos presentes en el momento de la recolección y que se desarrollan durante el almacenamiento (Behboudian y Mills, 1997).

Son varios los factores que están implicados en la incidencia de fisiopatías como, por ejemplo, el bitter pit. En este sentido, se ha descrito que en veranos secos la incidencia de bitter pit es mayor que en los húmedos (Monge *et al.*, 1994). Sin embargo, existe información contradictoria en referencia a la influencia del déficit hídrico sobre la incidencia de ésta fisiopatía durante el período de almacenamiento (Irving y Drost, 1987; Lötter *et al.*, 1985), lo cual sea probablemente debido al momento fenológico en que se inicia la restricción hídrica (Behboudian y Mills, 1997).

La composición mineral del fruto juega un papel importante en el desarrollo de éste desorden fisiológico. Telias *et al.* (2006), relacionaron la susceptibilidad de las manzanas al bitter pit con la deficiencia de calcio en el fruto. Igualmente, el trabajo presentado por Amarante *et al.* (2006), demuestra la relación inversa que existe entre la concentración de calcio, en el fruto de manzano y la incidencia de ésta fisiopatía tras un período de almacenamiento.

En este sentido, se menciona que el calcio, tras alcanzar la superficie de la raíz, se mueve pasivamente a través del flujo de transpiración acompañando al agua (Kirkby y Pilbeam, 1984). Por lo tanto, si el potencial hídrico se torna más negativo, la concentración de calcio en el fruto decrece (Bar-Tal *et al.*, 1999). Sin embargo, con la reducción del estatus hídrico de las plantas, el crecimiento de la parte vegetativa disminuye y, de alguna manera, el fruto puede ser preferentemente abastecido con calcio bajo condiciones de sequía (Behboudian y Mills, 1997).

A través de diversas investigaciones se han descrito los requerimientos de N de los árboles de manzano y su influencia sobre la producción y calidad de los frutos. En ellas, se señala que éste elemento mineral puede afectar la fijación (Xia y Cheng, 2005) y calidad de los frutos (Meheriuk *et al.*, 1992; Fallahi *et al.*, 2001; Drake *et al.*, 2002) al igual que el rendimiento (Amiri *et al.*, 2008; Nava y Dechen, 2009) y crecimiento del árbol (Malaguti *et al.*, 2006; Xia *et al.*, 2009).

El manejo de plantaciones de manzano bajo deficiencia de N restringe la producción y crecimiento del árbol, además favorece la caída temprana de las hojas y la vecería (Drake *et al.*, 2002). Sin embargo, el exceso de N generalmente incide negativamente sobre la calidad y el crecimiento de los frutos, afecta la intensidad del color, la concentración de azúcares, firmeza, los SST y el período de almacenamiento, entre otras (Neilsen *et al.*, 1999; Raese *et al.*, 2007). Al ser excesiva la aplicación de N, igualmente, se puede favorecer la incidencia de desordenes fisiológicos como el bitter pit (Raese y Drake, 1997), aunque, Oliver *et al.* (1994) describieron lo contrario.

Xia *et al.* (2009) describieron que en los árboles de manzano Gala, con carga de frutos moderada, los aportes nitrogenados inducen a un incremento en el tamaño del fruto como consecuencia del aumento en el número promedio de células por fruto.

En este sentido, se señala que la división celular del fruto de manzano finaliza entre las 4 y 6 semanas tras de plena floración (Lakso *et al.*, 1995; Al-Hinai y Roper, 2004), período durante el cual los frutos requieren alta aporte de fotoasimilados y altas concentraciones de N, para sostener el metabolismo activo asociado a la rápida división celular (Xia *et al.*, 2009). Por lo tanto, la deficiencia de N no sólo conlleva una baja concentración de N en frutos, sino que también afecta el aporte de carbohidratos hacia el fruto, lo que incita a un decrecimiento de la división celular. Contrario a ello, Robinsón *et al.* (2005) mencionan que el incremento del aporte nitrogenado no mejoró el tamaño final de los frutos de la manzana 'Gala'. De forma similar, Nava y Dechen (2009) y Forshey (1982) describieron la inconsistencia de la fertilización nitrogenada sobre el tamaño final del fruto en manzano, aunque las aportaciones de N incrementaron la cantidad de N en el fruto y tejido foliar, respectivamente. No obstante, Wargo *et al.* (2003) verificaron que el tamaño final de los frutos está más influenciado por la carga del frutal que por la cantidad de N aplicado. Al respecto se señala que son diversas las prácticas culturales precosecha que pueden afectar la calidad final de los frutos (Crisosto *et al.*, 1997; Fallahi *et al.*, 2001).

El aporte nitrogenado incrementa la concentración de SST del fruto, posiblemente, al mejorar el aporte de carbono al fruto o acelerar la degradación del almidón Xia *et al.* (2009). En este sentido, Neilsen *et al.* (2006) observaron que los árboles de manzano Gala al recibir bajos aportes de N durante las primeras 4 semanas tras la floración contenían mayor concentración de almidón en frutos a la recolección en comparación a los que recibieron altas dosis del nutriente. Resultados similares fueron descritos por Fallahi *et al.* (2001) en manzanos Fuji.

La firmeza de la pulpa, otro importante atributo de calidad de las manzanas, está igualmente afectada por las dosis del abono nitrogenado. Se señala que los frutos de árboles tratados con altas dosis de N se caracterizan por poseer menor firmeza

(Rease y Drake, 1997; Neilsen *et al.*, 1999; Raese *et al.*, 2007). Igualmente, la acidez valorable disminuye con las aportaciones de N (Neilsen *et al.*, 1999).

Raese y Williams (1974) mencionan al N como el principal factor que influye sobre el color de los frutos de manzano, además, señalan que el color amarillento de los frutos es uno de los criterios de aceptación más usados por el consumidor al momento de adquirir manzanas 'Golden Delicious'. En general, la intensidad del color se incrementa con el suministro bajo de N (Williams y Billngsely, 1974; Meheriuk *et al.*, 1992).

En general, investigaciones previas sugieren que aplicaciones moderadas de N permiten obtener frutos de manzano de mayor calidad, tal como señala Drake *et al.* (2002) para "Golden Delicious".

El agua y la absorción de nutrientes

El sistema radical de las plantas juega un papel importante en el crecimiento y producción de las plantas a través de dos de sus funciones primarias, la absorción y transporte de agua y nutrientes, por lo que si su desarrollo es afectado se limita la absorción de agua, lo que lleva a reducir el intercambio gaseoso y se genera la posibilidad de deficiencia y/o desequilibrio nutricional (Miller, 1986).

Está ampliamente demostrado que la cantidad de agua y nutrientes a disposición de las plantas depende del volumen de suelo explorado por su sistema radical, por lo que plantas con sistema de raíces profundo toleran mejor la deficiencia hídrica que las plantas con un sistema radicular superficial.

Por otro lado, la capacidad de un suelo de suministrar agua y nutrientes a las plantas no es homogénea y depende en gran medida, no sólo del contenido de humedad, sino también de diversos factores edáficos (Barceló *et al.*, 2005).

Los nutrientes, para que puedan ser absorbidos por las raíces, tienen que formar parte de la solución del suelo (Sekler, 2003), aunque, en ocasiones, son adquiridos directamente por intercepción radical a partir del suelo inmediatamente

adyacente a las raíces (Barceló *et al.*, 2005). Sin embargo, por esta vía es imposible cubrir las necesidades nutricionales de las plantas (Sekler, 2003).

No todos los nutrientes del suelo están disponibles directamente para las plantas y, a pesar de su distribución heterogénea en el suelo (Kotliar y Wiens, 1990; Jackson y Caldwell, 1993), su movilidad hacia las raíces ocurre por dos procesos diferentes (Sekler, 2003). Uno es por difusión de los iones a través del agua del suelo, que está determinado por el gradiente de concentración en la solución y el otro es por flujo de masa (Barber, 1962; Sands y Mulligan, 1990; Robinson, 1996), en el que la transpiración juega un papel importante al desalojar el agua alrededor de las raíces, y generar la tensión necesaria para que las raíces absorban la solución del suelo. Así, al renovarse la solución se transportan más nutrientes hacia las raíces (Keller, 2005). Por lo tanto, la transpiración, a través del flujo de masas, es el primer factor que provee de nutrientes a las raíces. Si este es insuficiente, la difusión provee un aporte localizado y potencialmente limitado de nutrientes, proceso particularmente gobernado por la diferente difusibilidad de los mismos (Sekler, 2003).

Por otro lado, la distribución y configuración del sistema radical es particularmente importante para la absorción de elementos minerales, especialmente, de los poco móviles, como el P, K, Zn y Fe (Barley, 1970; Schenk y Barber, 1980; Wells y Wang, 2001). Sin embargo, la distribución de las raíces puede ser modificada por factores como el agua y la propia disponibilidad de nutrientes (Gaitán *et al.*, 2005).

Según Sands y Mulligan (1990), la densidad de raíces es mayor cerca de la superficie del suelo, decreciendo exponencialmente con la profundidad. Mencionan además, que el crecimiento radical se ve favorecido en la zona cercana a la superficie donde la disponibilidad de nutrientes, la resistencia mecánica y la aireación son más favorables que en profundidad. Sin embargo, la capacidad de ramificación y de penetración del sistema radicular constituyen las características morfológicas más importantes que permiten al vegetal tolerar los déficit de humedad y evitar carencias nutricionales (Russell, 1977).

Absorción y asimilación del nitrógeno por la planta

El N inorgánico es absorbido por las raíces del manzano principalmente bajo la forma iónica de NO_3^- , aunque puede hacerlo como NH_4^+ (Neilsen y Neilsen, 2003). Una vez absorbido, el NO_3^- es reducido en la planta a la forma amoniacal, ya que es en la forma reducida en la que se incorpora a las moléculas orgánicas (Maldonado *et al.*, 2001). Además, las raíces del manzano, son capaces de absorber, en menor medida, compuestos orgánicos de N dentro de que se pueden citar la urea, el glutamato y el aspartato (Neilsen y Neilsen, 2003).

Una vez absorbido, el proceso de reducción del NO_3^- a NH_4^+ se lleva a cabo por medio de dos reacciones consecutivas. En la primera de ellas el NO_3^- es reducido a NO_2^- por la enzima nitrato reductasa (NR). Dicha reacción necesita del aporte de dos electrones suministrados por la molécula NADH. A continuación, el NO_2^- es reducido a NH_4^+ por la enzima nitrito reductasa (NiR) en una reacción que requiere de seis electrones, donados por la molécula ferredoxina reducida (Maldonado *et al.*, 2001).

La NR es una proteína con dos subunidades, cada una de que contiene una molécula de flavin-adenin-dinucleótido, un grupo hemo (con hierro) y un átomo de molibdeno (Mo). La NiR está constituida por una sola unidad de menor tamaño que las subunidades de NR, y contiene un centro sulfoférico (4Fe-4S) y otra molécula que también contiene hierro (Fe). Estas moléculas funcionan como transportadores de electrones desde la ferredoxina hasta el NO_2^- . La presencia de Fe y Mo en estas enzimas NR y NiR, explican la necesidad de ambos micronutrientes para el metabolismo del N (Maldonado *et al.*, 2001).

La reducción del NO_3^- necesita energía en forma de NADH o ferredoxina reducida. Esta energía procede directamente de la fotosíntesis, cuando la reducción de NO_3^- se realiza en la hoja, o del metabolismo respiratorio de los carbohidratos cuando la reducción ocurre en la raíz. Aunque la mayor reducción tiene lugar en las hojas (Oaks, 1979).

Según experiencias realizadas en cereales, a nivel cinético, se muestran dos sistemas de absorción para el NO_3^- , uno de alta afinidad y otro de baja afinidad para el ión (Tompkins *et al.*, 1978; McKown y McClure, 1988). El primero, sería inducible y saturable por la concentración externa de NO_3^- . El de baja afinidad sería constitutivo y de primer orden respecto a la concentración externa de NO_3^- , no mostrando cinética de saturación (Aslam *et al.*, 1992; Maldonado *et al.*, 2001).

La inducción del sistema de absorción del NO_3^- parece ser que depende de una concentración citoplasmática de NO_3^- crítica pero, al ser muy alta esa concentración, se transporta rápidamente a otros lugares, por lo que baja su concentración en la raíz, provocando una re-inducción del sistema de absorción. Sin embargo, no está claro si la concentración de NO_3^- de la raíz o algún producto de la asimilación de NO_3^- son responsables de ese 'feedback' negativo (Siddiqi *et al.*, 1989).

El ión NH_4^+ , procedente de la reducción del NO_3^- o de su absorción directa por la raíz es tóxico para las células y por ello no se debe acumular en grandes cantidades. El NH_4^+ se combina con otras moléculas existentes para formar aminoácidos como glutamina o ácido glutámico. El proceso ocurre en dos etapas. En primer lugar, el NH_4^+ es incorporado a una molécula de glutamato (o ácido glutámico), formándose glutamina en una reacción catalizada por la enzima glutamina sintetasa con consumo de una molécula de ATP. En segundo lugar, la glutamato sintetasa cataliza la transferencia reductiva del grupo amido de la glutamina al segundo carbono del 2-oxoglutarato, produciéndose dos moléculas de ácido glutámico. Posteriormente, se forman otros aminoácidos por reacciones enzimáticas de transaminación, en los que el ácido glutámico reacciona con otro cetoácido (ácido oxalacético), transfiriendo su grupo amino y formando ácido aspártico (aminoácido de 4 carbonos) y α -cetoglutarico. La fijación de un nuevo ión NH_4^+ sobre el ácido aspártico forma la amina asparagina. Los cuatro compuestos nitrogenados: ácido glutámico, glutamina, ácido aspártico y asparagina, son las principales moléculas en las que se transporta el N desde las células de la raíz a otras partes de la planta. A partir de esos aminoácidos se sintetizan todos los aminoácidos restantes, necesarios para la síntesis de proteínas (Maldonado *et al.*, 2001).

En manzanos, el NO_3^- es reducido a NH_4^+ principalmente a nivel de las raíces. Sin embargo, ha sido descrito que al recibir los árboles altos niveles de NO_3^- éste es translocado al tejido foliar y subsecuentemente reducido (Titus y Kang, 1982). Adicionalmente, se ha demostrado que, en base a la biomasa radical, los árboles con bajo estatus de N son más eficientes en su absorción en comparación a aquellos con alto estatus (Dong *et al.*, 2004).

La absorción del N por las raíces del manzano puede ocurrir a muy bajas concentraciones en la solución del suelo (Bhat, 1983). Sin embargo, las evidencias sugieren que la reactivación de la absorción radical en primavera no ocurre hasta que el árbol removilice sus reservas (Millard y Neilsen, 1989; Neilsen *et al.*, 2001a), siendo mayor la removilización en plena floración (Malaguti *et al.*, 2001), de ahí la importancia de considerar los cambios estacionales en la cinética de absorción al momento de orientar las prácticas de la fertilización nitrogenada (Khemira *et al.*, 1998; Niederholzer *et al.*, 2001; Policarpo *et al.*, 2002).

Estrategias agronómicas en la nutrición hídrica y nitrogenada

La productividad de los árboles frutales depende de varios factores en los que se incluye la combinación variedad/patrón, el sistema de plantación, el método de poda, la irrigación, la fertilización y, en general, las distintas prácticas manejo que se puedan ejecutar sobre la plantación. Sin embargo, sobre el nivel más básico, la productividad y calidad del producto cosechado es altamente dependiente de la máxima intercepción de luz, de la eficiente conversión de la energía lumínica en carbohidratos y de la posterior distribución de los fotoasimilados a los diferentes órganos de la planta. En consecuencia, los productos obtenidos de la explotación agrícola surgen a partir de la fotosíntesis.

El objetivo del riego radica en proveer suficiente humedad al suelo para compensar las pérdidas provocadas por transpiración y evaporación; y en última instancia minimizar los efectos negativos, que sobre el desarrollo de las plantas y su productividad pueda provocar el déficit hídrico (Kang *et al.*, 2002).

Desde los primeros estudios de riego en frutales de hoja caduca, diversos autores han coincidido en adjudicarle al riego tres beneficios principales: mejora el crecimiento de los árboles (Chalmers *et al.*, 1983; Landsberg y Jones, 1981), aumento de la carga de cosecha (Lötter *et al.*, 1985; Brun *et al.*, 1985) y aumento en el tamaño de los frutos (Daniell, 1982; Landsberg y Jones, 1981). Lo que permite corroborar que el manejo adecuado del agua en frutales puede conducir a excelentes resultados en la producción hortícola.

La tecnología de riego que se ha desarrollado en las últimas décadas, en particular el riego localizado, ha permitido lograr aumentos significativos en la eficiencia de aplicación del agua a los cultivos. Sin embargo, dada la creciente escasez de los recursos hídricos disponibles para la agricultura en algunas regiones del mundo, es necesario propiciar aun más el ahorro de los aportes hídricos a través de estrategias de riego más eficientes como la optimización en la asignación del agua a cada planta (Leib *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2005).

Una forma de promover la eficiencia en el uso del agua es a través de las reducciones en los aportes hídricos a las plantas (De Souza *et al.*, 2003). Aunque es conocido que el déficit hídrico afecta al crecimiento y productividad de los cultivos, su aplicación con criterio reduce la lixiviación de nutrientes y biocidas, disminuye los costos de poda debido a la reducción del crecimiento de la planta y puede mejorar la calidad de los frutos (Behboudian y Mills, 1997; Mpelasoka *et al.*, 2001b).

En este sentido, el RDC ha surgido como una estrategia de manejo del agua que consiste en restituirle a las plantas sólo parte de su demanda de evapotranspiración en períodos fenológicos específicos, causando el menor impacto posible a la producción y calidad de las cosechas (Chalmers *et al.*, 1981).

A pesar de que el objetivo inicial de ésta técnica fue el de reducir el crecimiento vegetativo y así los costes de poda en melocotoneros, teniendo en un segundo plano la idea de maximizar el uso del agua (Chalmers *et al.*, 1981), las investigaciones arrojaron resultados positivos en mantener o hasta incluso incrementar los rendimientos al promover el estrés cuando los frutos ralentizaban su crecimiento ahorrándose hasta un 25% del agua exigida por la ETc (Mitchell *et al.*,

1989). Sin embargo, al reproducirse estos ensayos bajo diferentes condiciones no siempre fueron concordantes (Girona *et al.*, 1993; Goldhamer *et al.*, 2002) lo que ilustra la especificidad del RDC y que al momento de extrapolar resultados hay que realizar ajustes y estudios en las distintas variedades, tipo de suelos y demanda de evapotranspiración, entre otros (Fereres *et al.*, 2003).

A pesar de ello, esta técnica se ha evaluado con resultados prometedores en especies perennes tales como peral (*Pirus communis* L.) (Chalmers *et al.*, 1986; Mitchell *et al.*, 1984), melocotonero (Li *et al.*, 1989; Mitchell y Chalmers, 1982), olivo (*Olea europea* L.) (Alegre *et al.*, 1997) y manzano (Anconelli *et al.*, 2008), demostrando que puede ser usada para economizar agua y controlar el crecimiento vegetativo de los árboles, sin inducir efectos perjudiciales sobre la producción en estas especies. Sin embargo, los detalles fisiológicos de las respuestas de las plantas a la aplicación de esta técnica no han sido del todo elucidados (Caspari *et al.*, 1994).

La DPR es otra estrategia de riego desarrollada recientemente para el cultivo de la vid (De la Hera *et al.*, 2007), que puede ser utilizada en cultivos en los que el riego deficitario controlado no conduce a resultados satisfactorios (Leib *et al.*, 2006).

Se basa en la detección directa del estatus hídrico del suelo por el sistema de raíces. Consiste en crear simultáneamente dos zonas radicales en la planta, una parcialmente seca y la otra correctamente humedecida. De esta manera, las raíces expuestas al suelo húmedo mantienen el estatus hídrico de la planta, mientras que, las raíces parcialmente deshidratadas sintetizan señales químicas, que son enviadas a los brotes vía xilema controlando hipotéticamente la conductancia estomática y con ello el vigor vegetativo (Kang *et al.*, 2002; dos Santos *et al.*, 2003).

Otro modo de incrementar la productividad del agua como alternativa al riego tradicional, es el riego deficitario (RD) (English y Raja, 1996), definido como la aplicación de agua a los cultivos por debajo de sus requerimientos máximos (English, 1990). Sin embargo, dependiendo de los niveles de agua almacenados en el suelo y de la cantidad y distribución de las precipitaciones el RD puede o no reducir la ETc por debajo de su máximo potencial (Fereres *et al.*, 2003).

En la aplicación de esta estrategia es necesario determinar el requerimiento máximo de ETc (Fereres *et al.*, 2003). Afortunadamente, desde que se introdujo el cálculo de la ETc en 1948, se han generado trabajos que han propuesto métodos fiables para su determinación y, en la actualidad, la ecuación Penman-Monteith es la establecida para calcular con suficiente precisión la ETc de los cultivos con propósitos de manejo de agua (Allen *et al.*, 1998).

Aunque en el mundo académico, el riego deficitario no había sido, usualmente, tratado como una práctica alternativa al riego tradicional (English y Raja, 1996), en la actualidad está teniendo gran auge debido a que la creciente competencia por agua entre la agricultura y otros sectores está forzando a la agricultura de regadío a operar bajo esquemas de escasez de agua (Fereres y Soriano, 2007). Sin embargo, la manera dogmática de ver el riego tradicional como una forma de optimizar la producción hace que la propuesta de reducir la ETc de los cultivos sea poco aceptada por los agricultores debido a la existencia de una relación, generalmente, lineal entre el rendimiento y la ETc (Fereres *et al.*, 2003).

En general, se ha demostrado que, bajo condiciones de sequía, el riego deficitario puede ser económicamente rentable al aumentar la productividad de la cosecha por unidad de agua aportada (English y Raja, 1996), debido principalmente a que el riego deficitario incrementa la eficiencia de la irrigación, reduce los costos de riego y oportunamente los costos del agua (English *et al.*, 1990). Sin embargo, para lograr estos beneficios es necesario un conocimiento preciso de la respuesta del cultivo a la cantidad de agua aportada (De la Hera *et al.*, 2007).

Hay circunstancias en las que manejar el riego bajo esquemas de deficiencia hídrica no es una alternativa viable. Por ejemplo, se ha demostrado, en el noreste de los EEUU, que el déficit de humedad del suelo no afecta los rendimientos de la patata (*Solanum tuberosum* L.) y, sin embargo, causa cambios significativamente adversos a la forma del tubérculo, un importante atributo de calidad (Robbins y Domingo, 1958). No obstante, el déficit hídrico incrementa la calidad del producto cosechado en otros cultivos (English y Raja, 1996).

Según Behboudian y Mills (1997), el manzano es una especie que difícilmente se puede adaptar a condiciones de riego deficitario, tanto por la fenología del fruto como por su susceptibilidad al estrés hídrico, especialmente, si el déficit hídrico es aplicado en la fase de máximo crecimiento del fruto, ya que induce la reducción de su tamaño (Mpelasoka *et al.*, 2001a). Este efecto podría ser contrarrestado por reducción de la carga cosecha (Naor *et al.*, 1997; Naschitz y Naor, 2005). Sin embargo, se conoce poco acerca de los mecanismos que sustentan esta respuesta (Mpelasoka *et al.*, 2001a).

A pesar de que se han realizado numerosas investigaciones referentes a la respuesta del manzano al déficit hídrico, muchas de éstas no son aplicables al efecto del estrés durante la fase de alargamiento celular del fruto (Naor *et al.*, 1997), por lo que es necesario estudiar la respuesta, en ambientes semiáridos, de las plantas al estrés hídrico durante el estado fenológico anteriormente mencionado para que puedan ser establecidas prácticas de manejo conducentes a optimizar su productividad (Ebel *et al.*, 2001).

Las aplicaciones de N generalmente van dirigidas al suelo. Sin embargo, dicha forma de aplicación se caracteriza por tener una baja tasa de recuperación y un alto riesgo de pérdida por lixiviación (Dinnes *et al.*, 2002). Por tanto, lograr que la mayor parte del N adicionado al suelo sea aprovechada por las plantas no es tarea fácil. Para ello es necesario considerar los requerimientos máximos del cultivo, el mejor momento de aplicación, la forma nitrogenada y el método de aplicación, además de factores edáficos y climáticos.

El N se caracteriza por ser el nutriente que con mayor frecuencia limita la producción vegetal debido a las grandes cantidades requeridas por los cultivos y a la frecuencia con que se observan sus deficiencias en los suelos, lo que exige la aplicación de fertilizantes nitrogenados para lograr una producción agrícola óptima. En consecuencia, la agricultura intensiva, dado que generalmente las plantas presentan baja tasa de recuperación de N, es considerada como la principal fuente de contaminación de los acuíferos y una gran emisora de gases nitrogenados a la atmósfera, lo que ha obligado a la declaración de zonas vulnerables a la

contaminación por nitratos, donde se controla explícitamente la cantidad de N aplicado con sanciones a los agricultores si sobrepasan las dosis máximas permitidas.

En consecuencia, uno de los principales desafíos de la agricultura intensiva es desarrollar tácticas para mitigar la contaminación de las aguas por nitratos y la emisión de gases nitrogenados, estrategias que afecten lo menos posible la producción y la calidad de los productivos vegetales.

Independientemente de que el manzano presente requerimientos anuales de N que puedan considerarse como relativamente modestos, en comparación a muchos otros cultivos (Neilsen y Neilsen, 2003), el reto es ajustar las aportaciones de fertilizantes nitrogenados a la demanda del cultivo y favorecer la eficiencia en la asimilación del N. Por tanto, la fertilización flexible (cantidad, fraccionamiento y momento de aplicación) basada en la productividad y fenología del cultivo, las formas de aplicación de los fertilizantes, el desarrollo de productos químicos que reduzcan la nitrificación o aumenten la retención del N en la zona de raíces, la mejora genética y el perfeccionamiento de prácticas agrícolas como la irrigación, entre otras, pueden permitir hacer un uso más eficiente del N.

Objetivos

Objetivo general:

- Evaluar la respuesta de las plantas de manzano a la aplicación de niveles reducidos de riego y a distintas dosis de abono nitrogenado, prestando particular atención a las relaciones de competencia por nutrientes (carbonados y minerales) y a la calidad del fruto.

Objetivos específicos:

- Determinar los modelos de **crecimiento** de órganos vegetativos y reproductivos de plantas de manzano bajo distintas dosis de fertilización nitrogenada y, por otra parte, bajo diferentes regímenes de irrigación.
- Estudiar el efecto del riego deficitario controlado y de la cantidad de nitrógeno aplicado sobre la **producción**.
- Evaluar los efectos de diferentes regímenes de riego y de fertilización nitrogenada sobre la concentración de carbohidratos solubles y de almidón, desarrollo de calciopatías, y otros parámetros que definen la **calidad del fruto**.
- Estudiar las **relaciones suelo-planta-agua** en función a la cantidad de agua y nitrógeno aportados al suelo.
- Estudiar el efecto de la aplicación de nitrógeno y del riego deficitario sobre la **capacidad fotosintética** foliar y el **estado nutricional** de la planta.

Material y Métodos

En numerosas investigaciones la irrigación y la nutrición nitrogenada han sido identificadas, como los factores de gran importancia que afectan la productividad de las especies cultivadas en diversas regiones del mundo. En consecuencia y, a través de varios años de experimentación, se ha llevado a cabo ésta tesis doctoral bajo un enfoque de sostenibilidad medioambiental. En este trabajo se han estudiado, en plantaciones comerciales de manzano y de manera independiente, el efecto de la restricción hídrica y de las aplicaciones edáficas y/o foliares de N en cantidades que iban desde dosis bajas hasta niveles que superaban el máximo permitido en las zonas de cultivo consideradas como vulnerables por el Gobierno de Aragón.

Localización de los ensayos.

Los ensayos de riego se llevaron a cabo, consecutivamente, durante 4 años en 2 plantaciones comerciales de manzanos ubicadas en la localidad de Alfamén, específicamente en las fincas La Pardina (41°23'27'' LN; 1°13'24'' LW) y en La Rinconada (41°25'46'' LN; 1°15'0'' LW). Ambas explotaciones, situadas en la provincia de Zaragoza, se encuentran en una zona geográfica vulnerable a la contaminación por NO_3^- y se pueden considerar como representativas de la explotación comercial del manzano en el Valle Medio del Ebro. Por otro lado, los ensayos referentes a la nutrición nitrogenada fueron realizados en las plantaciones comerciales de Alfamén antes mencionadas y en una parcela establecida con fines de investigación ubicada en la Estación Experimental de Aula Dei (EEAD) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Zaragoza (41°43'52'' LN; 0°48'14'' LW), además de un experimento en maceta, ubicado igualmente en la EEAD.

Las áreas de estudio se caracterizan por presentar un clima mediterráneo continentalizado bien definido, con suelos de marcado carácter fluvéntico y con presencia abundante de yeso y carbonato cálcico.

Estas zonas muestran como particularidad climática la aridez, junto con la continentalidad y los vientos. La aridez se refleja en las medias pluviométricas, aproximadamente 350 mm distribuidos estacionalmente con máximos equinocciales y mínimos solsticiales que, unidas a las elevadas temperaturas, evidencia la existencia de un prolongado periodo de estrés hídrico (de junio a octubre).

La continentalidad da lugar a fuertes contrastes entre los calores estivales y las bajas temperaturas invernales. La isoterma media anual se sitúa en los 13-15°C. En cuanto a las temperaturas mínimas, se puede observar que, en determinados periodos, pueden bajar de los 5°C, registrándose los valores más extremos en diciembre y enero. Las medias máximas del verano superan los 30°C, siendo los meses más cálidos junio, julio y agosto, en los que se pueden registrar máximas absolutas superiores a los 40°C.

En cuanto a los vientos cabe señalar la incidencia del *Cierzo* sobre las áreas de cultivo, un fuerte viento, originado en el valle del Ebro, que se forma debido a la diferencia de presión entre el mar Cantábrico y el Mediterráneo, cuando se forma una borrasca en este último y un anticiclón en el anterior.

Las variables climáticas registradas durante las estaciones de crecimiento en cada año de evaluación se resumen en las Figuras 1 y 2. Los datos de la localidad Alfamén fueron obtenidos de la estación agroclimatológica ubicada en Almonacid de la Sierra, mientras que los de la EEAD provinieron de la estación Montañana, ubicada en las proximidades de la misma finca experimental. Ambas estaciones pertenecen a la red del Sistema de Información Agroclimática del Regadío (SIAR), del Departamento de Agricultura y Alimentación de la Diputación General de Aragón.

En la Tabla 1 se presentan algunas características físico-químicas de los suelos de las parcelas donde se realizaron los ensayos.

Material Vegetal.

Para la realización de los ensayos se utilizaron árboles de manzano (*Malus x domestica* Borkh.) del grupo Golden, grupo que junto al Gala y Delicious aportan cerca del 90 % de la producción de manzanas en España (Iglesias *et al.*, 2007). Aunque la edad promedio de los árboles utilizados en los ensayos de campo estuvo entre los 7 y 9 años, los utilizados para los ensayos ubicados en la finca La Pardina tenían sobre los 20 años de edad.

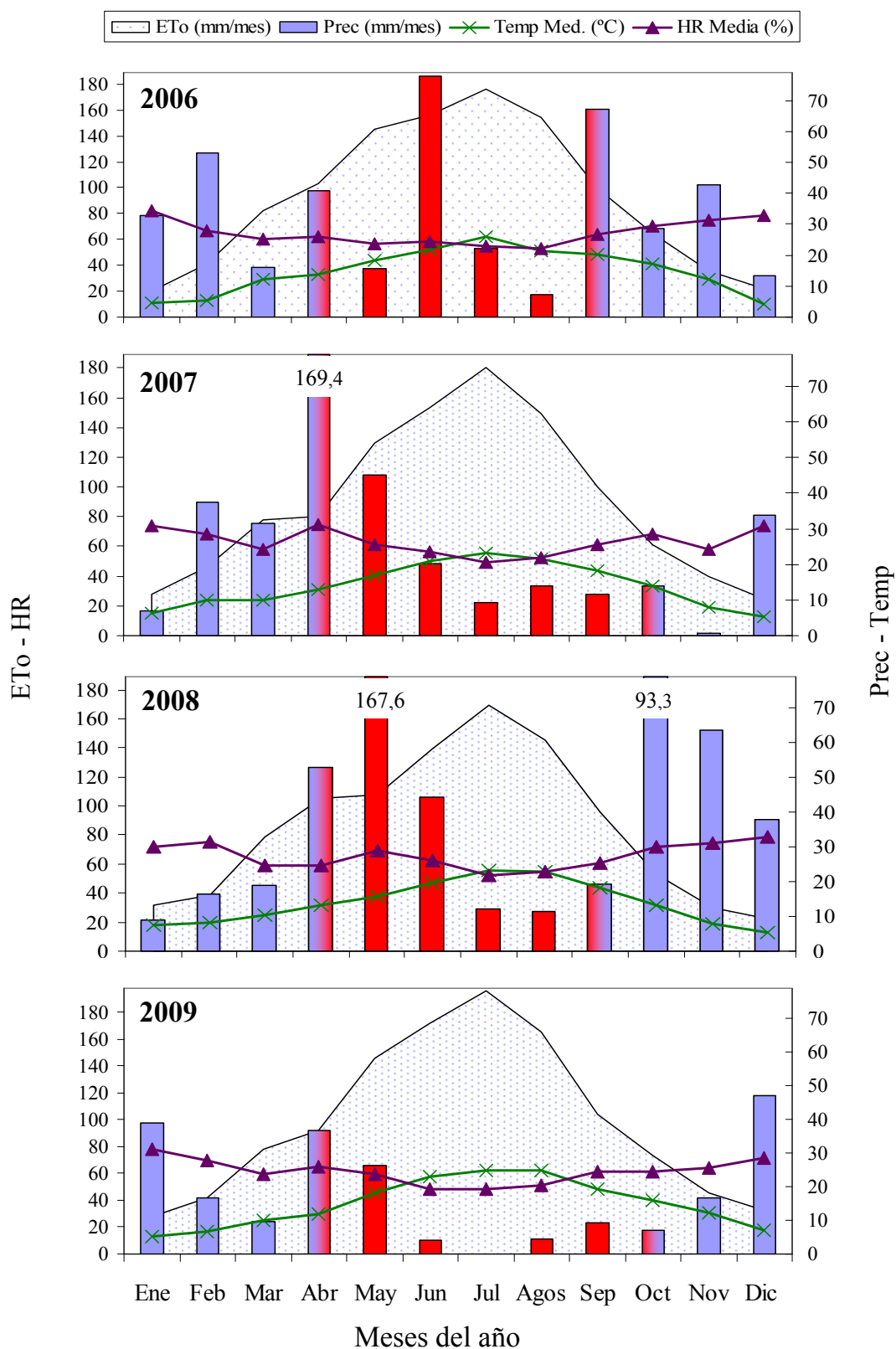


Figura 1. Datos meteorológicos tomados de la estación agroclimatológica de Almonacid de la Sierra (Red SIAR).

■ : Período de realización de los ensayos.

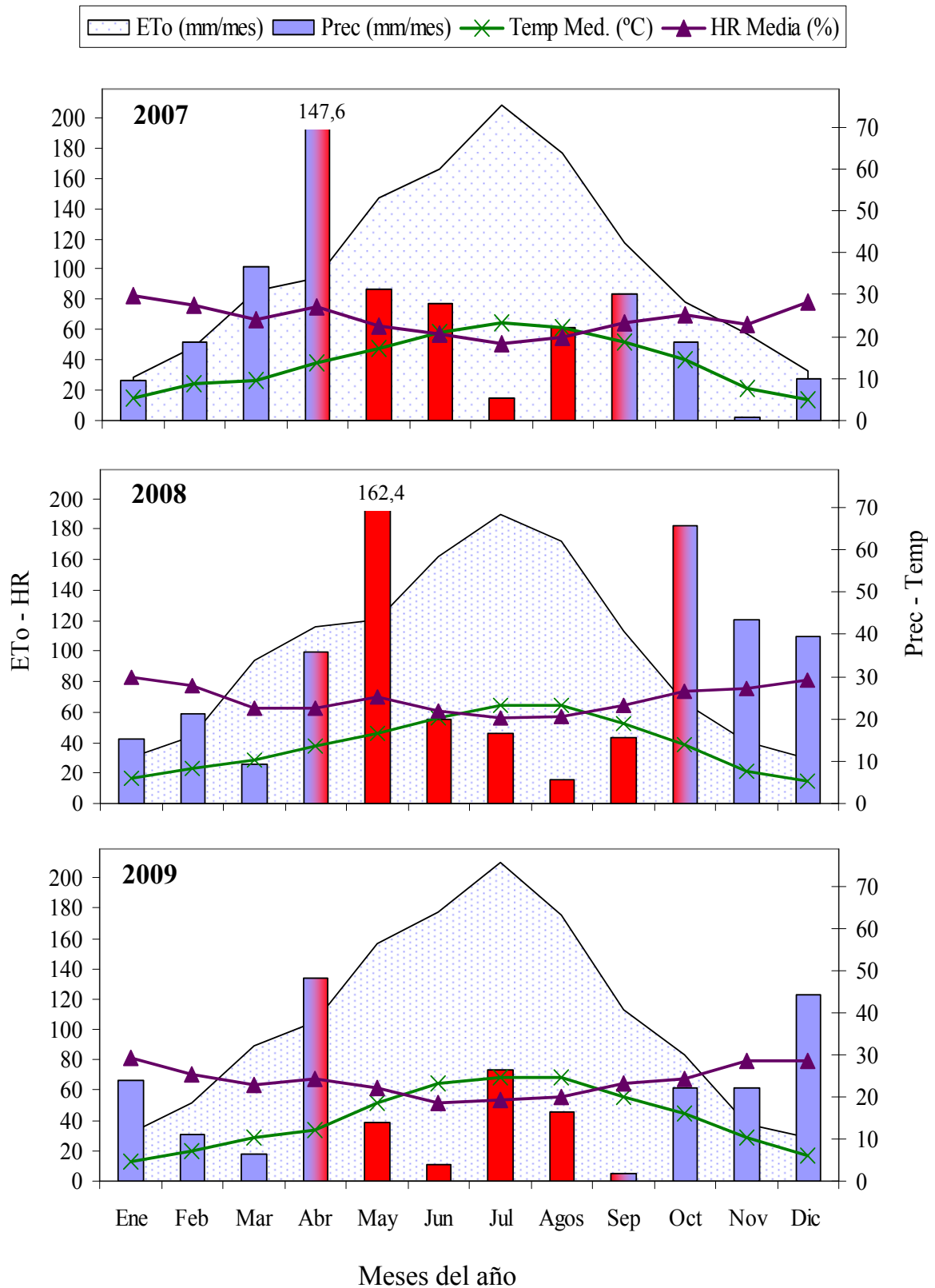


Figura 2. Datos meteorológicos tomados de la estación agroclimatológica de Montañana (Red SIAR).

: Período de realización de los ensayos.

La variedad utilizada en los ensayos realizados en la localidad de Alfamén fue 'Golden Reinders', mientras que, en la EEAD fue 'Smoothee Golden Delicious'. La 'Golden Reinders', se caracteriza por ser medianamente vigorosa y muy productiva. Sus frutos son de forma redonda y ligeramente troncocónicos, epicarpio fino y de coloración verde amarillenta, pulpa blanco-amarillenta, firme, jugosa, perfumada y de sabor muy agradable. Sensible a la manipulación, pero de buena conservación en frío y en atmósfera controlada. Mientras que, la 'Smoothee Golden Delicious' se caracteriza por ser una variedad de epicarpio fino y brillante, su color varía desde el verde al amarillo, según el estado de maduración. Su carne es crujiente, jugosa, dulce y aromática. Es apta para el consumo en fresco (Agusti, 2004).

Tabla 1. Características físico-químicas de los suelos donde se realizaron los ensayos.

	La Pardina	La Rinconada	EEAD
M.O. (%)	-	1,03	2,01
P (mg.kg ⁻¹)	-	170,00	77,20
K (mg.kg ⁻¹)	-	1580,00	1137,50
Ca (%)	-	2,37	12,46
Arena (%)	-	24,00	12,57
Limo (%)	-	40,00	68,20
Arcilla (%)	-	36,00	19,23
Clase textural	Franco-Arenoso	Franco-Arcilloso	Franco-limoso

Los árboles de las fincas de Alfamén tenían como patrón M9, mientras que los de la finca experimental de la EEAD habían sido injertados sobre Pajam. El patrón utilizado en los árboles cultivados en macetones fue igualmente M9.

La variedad polinizadora para la plantación de la finca La Pardina ha sido Verde Doncella. Para el resto de los casos, incluyendo el ensayo realizado en macetones, fue la Fuji.

Prácticas hortícolas.

Los marcos de plantación de la explotación agrícola La Pardina se encuentran a 4 m x 1,20 m y los de La Rinconada a 4 m x 1m, lo que resulta en densidades de

2083 y 2500 plantas/ha, respectivamente. Por otro lado, la densidad de plantación de la parcela experimental ubicada en la EEAD fue de 1333 árboles/ha. En todos los casos, los árboles presentaban un sistema de formación en eje central.

En todos los ensayos la fertilización extra se realizó manualmente. El sistema de riego era localizado, específicamente por goteo. Las cantidades de fertilizantes adicionados fueron calculadas en función de los análisis de suelo y de la producción de los árboles. En los ensayos concernientes al estudio de la fertilización nitrogenada, las dosis de N se distribuyeron quincenalmente desde abril hasta septiembre en los siguientes porcentajes: abril (10 %), mayo (20 %), junio (25 %), julio (20 %), agosto (15 %) y septiembre (10%), distribución estacional establecida para el manzano por Espada (2002).

El resto de prácticas culturales fueron las realizadas habitualmente en la zona en plantaciones comerciales de manzano.

Ensayos realizados y diseño de experimentos.

Se ha realizado, por separado, durante 4 años experimentales, un estudio del efecto de la aplicación de niveles reducidos de irrigación y de las aportaciones del N sobre la respuesta fisiológica de árboles de manzano a través de sendos grupos de ensayos, denominados: ensayos de déficit hídrico y ensayos de fertilización nitrogenada.

Ensayos de déficit hídrico.

Para el estudio de la aplicación de niveles reducidos de irrigación se realizaron los cuatro ensayos, que se describen a continuación:

Primer ensayo, año experimental 2006:

Este ensayo se realizó con el objetivo de obtener información preliminar acerca del comportamiento de los árboles de manzano en edad productiva frente a restricciones hídricas desde la plena floración hasta la recolección. El mismo fue llevado a cabo en la finca "La Pardina" durante la temporada agrícola 2006/2007 sobre árboles con una sección transversal de área de tronco (STAT) media de $105,3 \pm 29,5 \text{ cm}^2$.

Se evaluaron tres dosis de riego que cubrían el 50, 75 y 100 % de las exigencias hídricas del cultivo. El ensayo se irrigó por goteo y, para ajustar los volúmenes de agua a los niveles hídricos establecidos, se reemplazaron las mangueras de riego por otras equipadas con goteros autocompensados de 2 L h^{-1} de caudal, a distintas distancias entre sí, dependiendo del nivel hídrico de cada tratamiento.

Debido a un error de manejo del riego, a los árboles se les restringió, durante unos 60 días, en plena fase de crecimiento del fruto, aproximadamente un 45 % del requerimiento máximo calculado, lo que afectó a todos los tratamientos.

Segundo ensayo, años experimentales de 2007, 2008 y 2009.

Dado el éxito obtenido en la respuesta del primer ensayo de irrigación, se decidió ejecutar un segundo ensayo de irrigación durante tres años consecutivos en la finca "La Rinconada". En similitud al primer ensayo, los árboles fueron sometidos a una reducción lineal del agua aportada al suelo desde la plena floración hasta la recolección. Se aplicaron tres niveles hídricos: el T100, que cubría completamente las necesidades hídricas del cultivo y los T50 y T75 establecidos con una restricción del 50 y 25 % de las exigencias hídricas de los árboles, respectivamente. Los ensayos fueron regados por goteo y, para ajustar los volúmenes de agua aplicados, según tratamientos, se reemplazaron las mangueras de riego y se instalaron goteros autocompensados de $2,5 \text{ L h}^{-1}$ de caudal. Estos se colocaron, para cada tratamiento, a distintas distancias para cubrir los niveles hídricos establecidos en el ensayo.

En vista del error de manejo de riego sufrido en 2006 y, para corroborar la información facilitada por el productor respecto a las cantidades de agua de riego suministrada al cultivo, se decidió medir los volúmenes de agua aplicados por medio de caudalímetros instalados en la matriz de la línea de riego.

Al momento de iniciar el experimento los árboles sujetos a estudio tenían en promedio una STAT de $23,6 \pm 2,2 \text{ cm}^2$.

La dotación de agua para ambos ensayos se calculó a partir de la metodología propuesta por la FAO (Allen *et al.*, 1998) a través de la expresión, $ET_c = K_c \times ET_o$, donde ET_c es la evapotranspiración del cultivo. ET_o , la evapotranspiración del cultivo de referencia calculada semanalmente por el método de Penman-Monteith a partir de

los datos climáticos de la estación agrometeorológica de la red SIAR de Almonacid de la Sierra, próxima a las parcelas experimentales, y el Kc, un coeficiente de consumo cuyo valor osciló entre 0,22 y 1,17 dependiendo del momento fenológico del cultivo.

El volumen de agua aportado al suelo, según los tratamientos, se aprecia en la Figura 3, mientras que en el Tabla 20 (Pág. 122) se muestran las cantidades totales de agua aplicadas a cada árbol durante los períodos de evaluación.

Para estos ensayos se utilizó un diseño de experimentos en bloques al azar con 3 tratamientos y 4 repeticiones. La unidad experimental fue de 5 árboles, de que los 2 exteriores se utilizaron como borduras y los 3 centrales para la toma de muestras y determinaciones biométricas. Los resultados se examinaron mediante análisis de varianza de acuerdo al diseño de experimentos utilizado.

Ensayos de fertilización nitrogenada.

Para el estudio del efecto de la nutrición nitrogenada se realizaron 7 ensayos que a su vez, los fraccionamos en 3 grupos: fertilización nitrogenada edáfica, fertilización nitrogenada a dosis bajas y sobrefertilización nitrogenada tanto por vía edáfica como por vía foliar, ensayos que se describirán a continuación de manera individual.

Ensayo 1. Fertilización nitrogenada edáfica. Explotación agrícola La Pardina. Año 2006.

Durante este primer año experimental, se realizó un ensayo para determinar el efecto de diferentes dosis nitrogenadas (0, 40, 80, 120 y 200 unidades fertilizantes de nitrógeno hectárea⁻¹ año⁻¹ (UFN ha⁻¹ año⁻¹) sobre árboles de manzano fertilizados tradicionalmente con las máximas aportaciones de N permitidas para la zona (80 UFN ha⁻¹año⁻¹). Las muestras de agua de pozo tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, 25 mg de NO₃⁻ L⁻¹, equivalentes a 5,66 mg de N-NO₃⁻ L⁻¹.

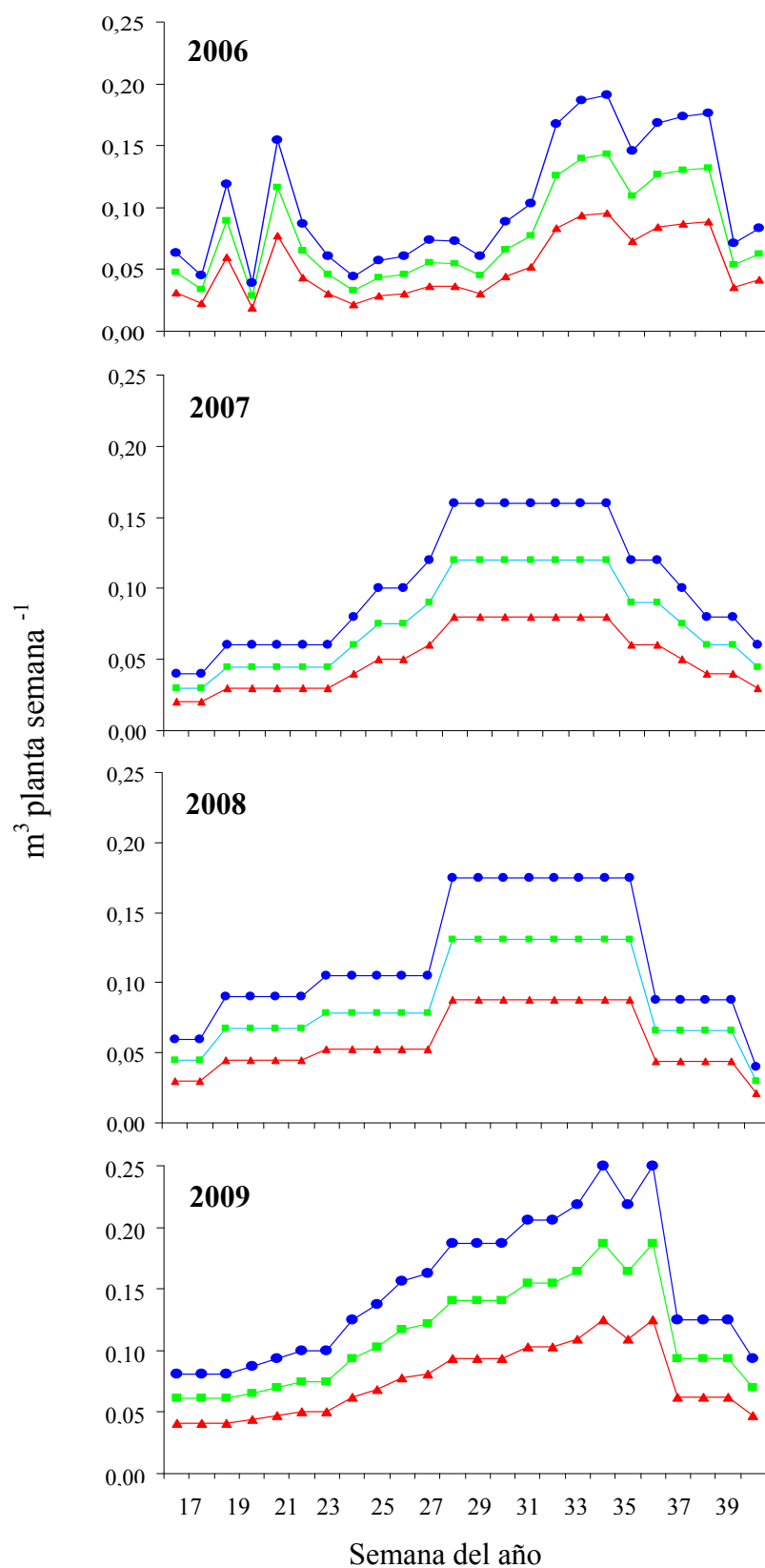


Figura 3. Volumen de agua aportada al suelo según los tratamientos aplicados en los distintos años de evaluación. T100 (●), T75 (■) y T50 (▲).

El objetivo de este ensayo consistió en evaluar la respuesta de árboles adultos tradicionalmente fertilizados con $80 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ a dosis crecientes de N, desde la no aplicación (0 UFN) hasta dosis como 120 y $200 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, que exceden el máximo permitido para la zona de cultivo, clasificada por el Gobierno de Aragón como vulnerable a la contaminación por NO_3^- . Se utilizó como fuente de N el sulfato de amonio $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$.

La aplicación de los tratamientos se realizó de forma manual, inyectando directamente al suelo a 30 cm del pie de árbol, coincidiendo generalmente con el área de mojado bajo los goteros. Los tratamientos se distribuyeron según diseño de bloques al azar, con 5 tratamientos y 3 repeticiones, siendo la unidad experimental 5 árboles, de que los 2 exteriores se utilizaron como borduras y los 3 centrales para la toma de muestras y determinaciones biométricas. Los árboles, seleccionados en función de su uniformidad, tenían en promedio una STAT inicial de $89,1 \pm 22,6 \text{ cm}^2$.

Ensayo 2. Fertilización nitrogenada edáfica. Finca experimental de la EEAD. Año 2007.

Para determinar la respuesta de los árboles adultos de manzano, con 5 años previos sin recibir aportes nitrogenados inorgánicos, a distintas dosis de N aplicadas al suelo, se evaluaron 4 tratamientos, consistentes de 0, 32, 64 y $97 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, inyectados de manera diluida, a unos 30 cm del pie del árbol, coincidiendo generalmente con el área de mojado bajo los goteros. Igualmente, los tratamientos se aplicaron quincenalmente desde abril hasta septiembre, siguiendo los mismos criterios de fertilización señalados anteriormente.

Las muestras de agua de riego tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, una cantidad de $0,41 \text{ mg N-NO}_3^- \text{ L}^{-1}$. Mientras que, con la mineralización de la materia orgánica, podría contarse como mínimo con 39 kg de N aportados por ha de suelo.

Se utilizó como fuente de N el NH_4NO_3 . La plantación recibió adicionalmente un abonado de $39,4 \text{ g árbol}^{-1}$ de P_2O_5 y $127,6 \text{ g árbol}^{-1}$ de KCl.

Los árboles, seleccionados en función a su uniformidad, inicialmente tenían en promedio una STAT de $30,3 \pm 7,2 \text{ cm}^2$. Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental en cuadrado latino con 4 réplicas, siendo la unidad experimental 4 árboles, de que los 2 exteriores se utilizaron como borduras y los 2 centrales para la toma de muestras y determinaciones biométricas.

Ensayo 3. Sobrefertilización nitrogenada. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2007.

Para analizar el efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la respuesta fisiológica de los árboles de manzano, se diseñó este ensayo donde se adicionó el exceso de abono nitrogenado tanto por vía edáfica como por vía foliar. Se utilizó nitrato de amonio (NH_4NO_3) por ser la misma forma química empleada por el productor para aportar N a su plantación.

El ensayo consistió en 4 tratamientos de fertilización, 3 de ellos superando el máximo permitido de la zona de cultivo. El T1 lo constituyó la dosis basal utilizada por el productor para toda la explotación, $32 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$; en el T2 se aplicaron 97 ($32 \text{ basal} + 65$) UFN al suelo. El T3 consistió de una dosis adicional de 87 UFN aplicadas al suelo, para un total de 119 UFN al considerar la fertilización “basal”. El último tratamiento, el T4, consistió en un abonado en el que además de la dosis basal utilizada por el productor ($32 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, vía edáfica) se adicionaron $65 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ por vía foliar.

Las 32 UFN basales se aplicaron quincenalmente mediante fertirrigación y las dosis complementarias edáficas se aplicaron directamente al suelo, a unos 30 cm del pie del árbol, coincidiendo generalmente con el área de mojado bajo los goteros. Las foliares se aplicaron por aspersión utilizando para ello una mochila de espalda a motor. Los tratamientos de sobrefertilización se aplicaron con la misma cadencia y calendario que en los ensayos anteriores. La inclusión de la fertilización foliar como tratamiento se decidió ya que, según Kuepper (2003), esta forma de fertilización es de más rápida asimilación que la edáfica.

Las muestras de agua de riego tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, una cantidad de $50,10 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$. Mientras que, con la

mineralización de la materia orgánica, podría contarse como mínimo con 17 kg de N aportados por ha de suelo.

Los tratamientos se organizaron en un diseño de bloques al azar, con 4 tratamientos y 4 réplicas, siendo la unidad experimental 5 árboles, de que los 2 exteriores se utilizaron como borduras y los 3 centrales para la toma de muestras y determinaciones biométricas.

Al momento de iniciar el experimento los árboles, seleccionados en función de su uniformidad, tenían en promedio una STAT de $24,4 \pm 3,8 \text{ cm}^2$.

Ensayo 4. Fertilización nitrogenada foliar. Finca experimental de la EEAD. Año 2008.

En este ensayo la plantación de manzanos no había sido abonada en los últimos 6 años, lo que permitió aplicaciones en dosis bajas del fertilizante nitrogenado. Para ello se establecieron 4 tratamientos: el T1 consistió en la aplicación de 0 UFN, mientras que, en el resto se aplicaron $32 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, misma dosis basal aplicada por el agricultor en La Rinconada. En el T2, se aplicó el N al suelo en forma de disolución utilizando NH_4NO_3 como fuente nitrogenada. El T3 y T4, consistieron en la aplicación foliar de NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, respectivamente. La ausencia de árboles con buena floración impidió que se aplicaran el mayor número de tratamientos que se tenían planificados realizar inicialmente.

Las muestras de agua de riego tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, una cantidad de $0,1 \text{ mg NO}_3^- \text{ L}^{-1}$. Mientras que, con la mineralización de la materia orgánica, podría contarse como mínimo con 39 kg de N aportados por ha de suelo.

Los tratamientos se aplicaron quincenalmente, desde mayo hasta septiembre para un total de 8 aplicaciones. Al igual que en el año anterior, en esta parcela experimental los árboles se seleccionaron en función de su uniformidad (STAT inicial media de $30,7 \pm 5,3 \text{ cm}^2$), distribuyéndose los tratamientos en un diseño en cuadrado latino con 4 repeticiones, siendo la unidad experimental 4 árboles, de que los 2 exteriores se utilizaron como borduras y los 2 centrales para la toma de muestras y determinaciones biométricas.

Ensayo 5. Fertilización nitrogenada foliar. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2008.

Con el objetivo de comprobar la respuesta de los árboles de manzanos a sobrefertilización nitrogenada por vía foliar se planteó este ensayo donde aplicó a la plantación 32 UFN ha⁻¹ año⁻¹ por encima del requerimiento máximo permitido para la zona. En este ensayo se establecieron 5 tratamientos, el T1 consistió de la dosis utilizada por el productor (32 UFN ha⁻¹ año⁻¹), que consideramos como dosis basal. Se usó como fuente nitrogenada el NH₄NO₃, y sólo para el T1 fue suministrado por fertirrigación. Los 4 tratamientos restantes consistieron duplicar la dosis adicionada por el agricultor tanto por vía edáfica como por vía foliar. Para la sobrefertilización se utilizó como fuente nitrogenada el NH₄NO₃ y la urea (CO(NH₂)₂) baja en biuret, esta última, a diferencia de los ensayos anteriores, se incorporó debido a que es la formulación más adecuada para adicionar N vía foliar (Swietlik y Faust, 1984). Las 32 UFN se aplicaron quincenalmente, desde mayo hasta septiembre para un total de 8 aplicaciones. Se siguió el mismo criterio anterior para la selección de los árboles y las unidades experimentales. El total de los tratamientos se organizaron en un diseño factorial 2² que se compararon con un control (T1).

Las muestras de agua de pozo tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, una cantidad de 15,63 mg de NO₃⁻ L⁻¹, equivalentes a 3,54 mg de N-NO₃⁻ L⁻¹. Mientras que la mineralización de la materia orgánica del suelo aportó como mínimo 17 UFN ha⁻¹

El experimento se inició sobre árboles con una STAT media de 27,4 ± 5,2 cm².

Ensayo 6. Fertilización nitrogenada foliar. Explotación agrícola La Rinconada. Año 2009.

El objetivo del presente ensayo fue determinar la respuesta de los árboles sometidos a sobrefertilización nitrogenada en el ciclo productivo anterior (árboles del ensayo 5) a una sobreaportación mas ligera de N (24 UFN ha⁻¹ año⁻¹). Se ha utilizado NH₄NO₃ y urea (CO(NH₂)₂) como fuente de N, suministrados tanto por vía edáfica como por vía foliar .

En similitud al ensayo 5, se establecieron 5 tratamientos nitrogenados. El T1, adicionado por el agricultor, fue considerado como tratamiento basal. En los 4 tratamientos restantes se adicionaron 32 UFN ha⁻¹ año⁻¹, utilizándose para el T2 NH₄NO₃ y para el T3 CO(NH₂)₂ baja en biuret, ambos tratamientos suministrados vía edáfica. Para el T4 y T5 se utilizaron las mismas formulaciones pero proporcionados por vía foliar, respectivamente. Las 32 UFN se aplicaron quincenalmente, desde mayo hasta septiembre para un total de 8 aplicaciones. Se siguió la misma cadencia y calendario utilizada en el ensayo 5 para la aplicación de los fertilizantes. El total de los tratamientos se organizaron en un diseño factorial 2², que se compararon con un control (T1).

Las muestras de agua de riego tomadas al inicio del ensayo arrojaron, en promedio, una cantidad de 28,50 mg NO₃⁻ L⁻¹. De las necesidades netas de los árboles sólo se logró persuadir al agricultor que dejase de aplicar 8 UFN ha⁻¹ por lo que el tratamiento basal (T1) consistió de la aplicación de 24 UFN ha⁻¹ año⁻¹.

Ensayo 7. Fertilización nitrogenada foliar. Finca experimental de la EEAD. Año 2009.

El objetivo de este ensayo fue el estudio del efecto del N suministrado vía foliar sobre la capacidad fotosintética de los árboles cultivados bajo ausencia de aportaciones nitrogenadas adicionales.

Este ensayo, fue realizado en la EEAD con árboles de tres años de la variedad ‘Smoother Golden Delicious’, plantados en contenedores de 75 L de capacidad sobre un sustrato constituido por arena de sílice lavada. En este caso se estudió sólo el efecto de la aplicación foliar de dos fuentes nitrogenadas (NH₄NO₃ y CO(NH₂)₂), aplicando desde dosis deficientes hasta sobrefertilizaciones para un total de 11 tratamientos (2, 4, 12, 20 y 30 g de N planta⁻¹), que han sido comparados con un tratamiento adicional, el control sin tratar. La aplicación de los tratamientos fue quincenal, iniciándose con la floración y finalizando tras 10 aplicaciones. El total de tratamientos se organizaron en un diseño factorial 2x5 que se compararon con el control no abonado.

Variables evaluadas:**a) En el suelo.***a.1. Contenido de humedad.*

Con el propósito de estudiar, en los ensayos de riego, la dinámica de la humedad en el suelo, ésta se registró a intervalos semanales a partir de la plena floración y a lo largo de la estación de crecimiento, en cada una de las unidades experimentales. Para su registro se utilizó una sonda de capacitancia FDR (Frequency Domain Reflectometry), Diviner 2000, que mide indirectamente la humedad volumétrica cada 10 cm, al deslizarse por tubos de acceso hasta 40 cm de profundidad, a través de lecturas de constantes dieléctricas (Sentek, 1999). Los tubos de acceso se colocaron en el centro de cada unidad experimental, ubicados bajo la manguera de riego cercano a un gotero.

a.2. Determinación de nitratos en solución del suelo

En los ensayos sobre nutrición nitrogenada se realizaron determinaciones de NO_3^- en la solución del suelo a partir de muestras de agua obtenidas mediante sondas de cerámica porosa de succión a 30 y 60 cm de profundidad, instaladas en cada uno de los bloques donde los tratamientos eran adicionados al suelo. La succión se consiguió aplicando vacío con una bomba Telstar. Una vez obtenida la muestra de la solución del suelo, se colocó una banda reactiva Merck 10020 en dicha solución y se leyó en el colorímetro Nitratecheck la concentración de N-NO_3 (mg L^{-1}).

b) En la planta.*b.1. Potencial hídrico.*

Para la determinación del potencial hídrico xilemático de las plantas sometidas a los diferentes tratamientos de aportes hídricos al suelo, se utilizó el método de la cámara de presión (Schollander *et al.*, 1965). Para ello, se seleccionaron 4 hojas sombreadas y completamente expandidas de la parte media de cada árbol, que fueron cubiertas con una bolsa de material de

aluminio con el objeto de equilibrar el potencial del tejido foliar con el potencial hídrico del xilema (Naor, 2001).

Tras un período de equilibrio de 1 h las hojas fueron separadas de los brotes y la lámina foliar se introdujo dentro de la cámara de presión tipo Scholander Modelo 600 (PMS Instrument Co., Albany, Oregón EEUU), dejando el pecíolo expuesto. La presión interior de la cámara, conseguida a través de la inyección de gas nitrógeno comprimido, se incrementó hasta obtener un balance de presión en la columna de agua del xilema de la hoja, el cual se alcanzó cuando la exudación de la savia retenida en el xilema apareció en la zona de corte del pecíolo (Turner, 1988). Las determinaciones se realizaron entre las 11:00 y 13:00 horas (Naor *et al.*, 1995).

b.2. biometría de los brotes

Una vez finalizados los ensayos, se seleccionaron 10 brotes terminales por árbol y se registró su longitud, área de la sección a nivel de la base, número de nudos, longitud del entrenudo, peso fresco, peso seco y el contenido de humedad.

b.3. Dinámica del crecimiento de brotes y ajuste del modelo de crecimiento.

El registro de la longitud de los brotes terminales se efectuó quincenalmente, a partir de la plena floración, hasta el final de la estación. El crecimiento se expresó por el promedio de la medida en longitud de 4 brotes seleccionados al azar por cada unidad experimental, usándose para ello una cinta métrica (Medjdoub *et al.*, 2005).

Con el objeto de describir la evolución del crecimiento de los brotes, los datos fueron ajustados al modelo de crecimiento logístico descrito por Blanco-Braña y Jackson (1982), previa validación de las hipótesis que lo sustentan. La representación matemática del modelo es la siguiente:

$$y = c / 1 + \exp^{(-b \cdot (x - M))}$$

Donde:

y= Longitud de brotes (cm), en un momento determinado

c= Tamaño final del brote

b= Factor de corrección que va desde 0,02 a 0,09

x= Días tras plena floración en los que se desea determinar “y”

M= Días tras plena floración en los que ocurre la máxima razón de crecimiento

La tangente al punto de inflexión de la curva es la máxima razón de crecimiento (m) y viene dada por:

$$m = b \cdot c / 4$$

b.4. Biometría de hojas.

A distintos días tras plena floración (DTPF) se tomaron muestras constituidas por 30 hojas de cada unidad experimental con la finalidad de determinar parámetros biométricos como el área foliar y el peso seco y específico de las hojas. El área fue determinada con medidor portátil (Li-Cor Modelo 3000A, Li-Cor. Lincoln, Nebraska, EEUU). Posteriormente, las hojas fueron lavadas y despeciadas. Tras permanecer 48 horas en estufa de ventilación forzada a 65°C, se determinó el peso seco. El peso específico foliar (mg cm^{-2}) se calculó como el cociente entre el peso seco foliar y la superficie total de la hoja.

b.5. Radiación fotosintéticamente activa (PAR)

Las mediciones de PAR fueron realizadas con un ceptómetro (Sonda SunScan tipo SS1. DELTA-T Devices, Cambridge, Reino Unido). Sólo se evaluó en 2007 y 2009. En los ensayos de 2007 se llevó a cabo una única medición, realizada al momento de la recolección. Mientras que en 2009 se evaluó en fechas equivalentes a 60, 120 y 160 DTPF. Todas las determinaciones fueron realizadas de 11:30 h y 12:30 h solares cuando la radiación luminosa es directa. Antes de iniciar las lecturas de la radiación fotosintéticamente activa que traspasa al dosel de los árboles, se efectuó una medición (A) por duplicado, en la hilera, a un metro de distancia de los árboles para registrar la radiación directa fotosintéticamente activa. Posteriormente, a unos 30 cm del pie del árbol se tomaron 4 mediciones formando un cuadro con la barra. Cada una de las mediciones (B) será la media de 64 lecturas (correspondientes a los 64 sensores del ceptómetro que pueden registrar un valor máximo de 2500 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La diferencia entre la medida efectuada fuera del árbol (A) y

la media de las 4 mediciones (B) debajo del árbol determinarán la radiación fotosintética activa que atraviesa el árbol.

b.6. Sección transversal de área de tronco (STAT).

Al inicio y final de cada estación de crecimiento se determinó el perímetro de tronco de los árboles a una altura aproximada de 20 cm del suelo con ayuda de una cinta métrica. Posteriormente se calculó la STAT y con ello el incremento relativo.

b.7. Tasa fotosintética.

Se efectuaron medidas de fotosíntesis neta con un analizador portátil de gases por infrarrojos (LCi, ADC BioScientific Ltd, Hoddesdon, Herts, UK.). Para ello, se evaluaron, por planta, 4 hojas completamente expandidas, expuestas al sol, con aproximadamente la misma edad y del tercio medio del árbol (Medjdoub *et al.*, 2007). Las mediciones se realizaron entre las 12:00 y las 13:00 horas (Mpelasoka *et al.*, 2001a). Sólo se consideraron los datos medidos cuando el flujo de fotones fotosintéticamente activos superó los $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

b.8. Densidad estomática.

En el ensayo de irrigación de 2009, a los 120 DTPF, se colectaron por cada unidad experimental 15 hojas para un total de 60 láminas foliares por tratamiento. Las mismas se seleccionaron del nudo número 7 en sentido basípeto por considerarse como la hoja más recientemente madura del brote. De cada una, se conservaron en etanol al 70%, los tercios basal, medio y apical hasta su análisis.

Posteriormente, al momento de estudiar la densidad estomática, se sometieron a aclarado segmentos de lámina foliar de aproximadamente 1 cm^2 utilizando para ello una solución de lejía comercial y agua destilada en proporción 1:1 durante 24 horas a temperatura ambiente. Una vez obtenidos los aclarados epidérmicos, se lavaron con abundante agua destilada y se tiñeron con safranina. Se hicieron montajes semipermanentes con agua-glicerina (1:1).

Los valores promedios de la densidad se determinaron en los aclarados epidérmicos utilizando un microscópio óptico Reichert-Jung Microstar (Nueva York, EEUU) acopado a un ordenador y provisto de cámara fotográfica digital de 5 Mb de resolución.

Se realizaron en total, por cada tercio foliar, 300 observaciones correspondientes a las cuatro repeticiones por cada tratamiento.

La densidad estomática se obtuvo contando el número de estomas en el área correspondiente al campo de 40X.

b.9. Índice de clorofila (SPAD).

El contenido relativo de clorofilas se determinó mediante un SPAD 502 (Soil-Plant Analysis Development, Minolta, Osaka, Japón). Este dispositivo mide la absorción de luz de la clorofila de los tilacoides a dos longitudes de onda, en el rojo y en el infrarrojo cercano (Jifon *et al.*, 2005). La determinación se llevó a cabo sobre las mismas hojas utilizadas en la determinación de la capacidad fotosintética foliar.

b.10. Fluorescencia de clorofila.

Las mediciones de fluorescencia de la clorofila se realizaron con un fluorímetro portátil Hansatech (Pocket PEA, Inglaterra). Sólo se utilizó este instrumento en los ensayos de 2009. Todas las determinaciones fueron realizadas entre las 12:00 y 13:00 horas, en las mismas hojas utilizadas en la determinación de la capacidad fotosintética foliar.

Una pequeña porción del tejido foliar fue adaptada a la oscuridad con ayuda de una pinzas por un período de 30 minutos, esto con la finalidad de que los centros del *PSII* se encontraran en forma mayoritariamente oxidada. Tras el período de oscuridad la hoja fue sometida a un pulso de luz saturante lo que induce la fluorescencia foliar, cuya curva de inducción se registra en la memoria del equipo. Posteriormente, mediante el software específico puede recuperarse la curva completa de la que se calculan los parámetros: fluorescencia mínima (F_o) máxima (F_m), fluorescencia variable (F_v) y la

relación F_v/F_m , valor último que permite estimar el rendimiento cuántico potencial del *PSII*.

b.11. Concentración de almidón.

La determinación de la concentración de almidón se llevó a cabo siguiendo el método descrito por (Nielson, 1943) con algunas modificaciones.

A 0,5 g de muestra seca, molida y tamizada se les adicionan, en un vaso de precipitados de 50 mL, 2 mL de agua MilliQ y 2,7 mL de ácido perclórico al 72 %. Tras ser agitada lentamente por 30 min, la mezcla es llevada a 50 mL con agua MilliQ. Se toma una alícuota de 1 mL del líquido y se coloca en un vaso de precipitados de 25 o 50 mL, dependiendo de la concentración de almidón, se adicionan 6 mL de agua, se agrega 1 gota de fenolftaleína y unas gotas de hidróxido de sodio 6N hasta viraje de color. Posteriormente, se adiciona ácido acético 2 N hasta que ocurre nuevamente el viraje de color para luego agregar 2,5 mL del mismo ácido en exceso. Se añaden 0,5 mL de IK al 10 % y 5 mL de IO_3K 0,01 N y se enrasan. Una vez incubado, al menos, durante 30 min se construye una gráfica patrón de almidón (eje de las abscisas) contra la absorbancia obtenida a una longitud de onda de 675 nm.

La solución estándar para la elaboración de la recta patrón se realiza a partir de almidón de patata soluble grado analítico Panreac Química S.A. (Barcelona España).

b.12. Extracción y determinación de azúcares solubles.

Los carbohidratos solubles han sido estudiados en muestras de hoja y pulpa de frutos. En promedio, 10 frutos, a la recolección, y 30 hojas, a los 120 DTPF y al momento de la recolección, fueron colectadas por unidad experimental. Las hojas fueron lavadas, secadas y congeladas en N líquido directamente en campo. Los frutos, una vez en el laboratorio, fueron pelados, cortados en pequeñas piezas y congelados inmediatamente en nitrógeno líquido. Ambas muestras congeladas fueron almacenadas a -20°C hasta su análisis.

En el momento del análisis se tomaron 0,3 g de peso seco de muestra de hoja liofilizada y 0,5 g en el caso de los frutos. Las muestras pesadas fueron homogenizadas en hielo por 1 min con ayuda de un Omni-Mixer modelo 17106 (OIC-Instruments, Waterbury, EEUU) en 3 y 10 mL de etanol al 80% (v/v), respectivamente. La mezcla fue centrifugada a 20000 rpm durante 20 min a 4°C. El sobrenadante fue recuperado y procesado como sigue:

Se incubaron 250 μL del sobrenadante a 80°C por 20 min en 200 μL de etanol al 80 % y 50 μL de patrón interno (Manitol, 30 mg mL^{-1} en caso de hojas y 50 mg mL^{-1} en caso de frutos). Una vez extraídos los azúcares, la muestra fue filtrada a través un cartucho Sep-Pak Plus C_{18} (Waters-Millipore, Barcelona, España) para eliminar las interferencias de los residuos polares. Posteriormente, los cartuchos fueron lavados con etanol al 80 % (v/v) con la finalidad de arrastrar los azúcares retenidos. Una vez recuperado todo el sobrenadante se evaporó con un concentrador centrífugo Speed-Vac® modelo SPD IIIV (Thermo Savant, EEUU) y seguidamente la muestra fue resuspendida 500 en μL de agua MilliQ y pasada a través de filtros 0,45 y 0,22 μm . Finalmente la muestra se congeló hasta el momento del análisis.

El contenido de azúcares presente en cada muestra fue determinado mediante un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Waters-Millipore, Milford, Mass, EEUU) equipado con un detector de índice de refracción (Waters-2410) y una columna para análisis de carbohidratos Bio-Rad (Aminex HPX-87C 300 mm x 7,8 mm). El solvente utilizado fue agua MilliQ a un flujo de 0,6 mL min^{-1} a 85°C. El volumen de inyección al sistema de HPLC, según la capacidad del 'loop' instalado, fue de 20 μL de muestra.

La sacarosa, glucosa, fructosa y sorbitol se identificaron comparando sus tiempos de retención con los de patrones de referencia y la concentración se calculó (automáticamente mediante el programa Millinium 3.2 software, Waters (Milford, Mass, EEUU) tras la calibración realizada con estándares de grado analítico Panreac Química S.A. (Barcelona España). La concentración de azúcares fue expresada en mg g^{-1} de peso seco.

b.13. Crecimiento de frutos y ajuste del modelo de crecimiento.

El registro del crecimiento de los frutos se realizó quincenalmente, a partir del aclareo frutos hasta la recolección. El crecimiento se expresó por el promedio de la medida de los diámetros ecuatoriales de 5 frutos seleccionados aleatoriamente, de manera no destructiva, por cada cara del árbol para un total de 10 observaciones, por unidad experimental. Se utilizó un calibre digital de precisión Mitutoyo (modelo Calipeter) unido a un "Data Logger" para almacenar las mediciones directamente en campo (Aznar, 2001).

Con el objeto de describir la evolución del crecimiento de los frutos, los datos fueron ajustados, al igual que el crecimiento de brotes, al modelo de crecimiento logístico descrito por Blanco-Braña y Jackson (1982), previa validación de las hipótesis que lo sustentan. La representación matemática del modelo es la siguiente:

$$y = c / (1 + \exp^{-b \cdot (x - M)})$$

Donde:

y= Diámetro del fruto (mm), en un momento determinado

c= Tamaño final del fruto

b= Factor de corrección que va desde 0,02 a 0,09

x= Días tras plena floración en los que se desea determinar "y"

M= Días tras plena floración en los que ocurre la máxima razón de crecimiento

La tangente al punto de inflexión de la curva es la máxima razón de crecimiento (m) y viene dada por:

$$m = b \cdot c / 4$$

c) Parámetros de producción

Al finalizar el ciclo de producción de cada ensayo, la totalidad de los frutos producidos por las plantas evaluadas fueron recolectados, contados y pesados para determinar el rendimiento de cada árbol.

Una muestra aproximada de 120 frutos, recolectada en su madurez comercial, por unidad experimental fue almacenada en cámara bajo frío convencional (2-4°C). Los frutos almacenados fueron agrupados en tres categorías (< 60 mm; 60 – 70 mm y > 70 mm) de acuerdo al estándar comercial (Alonso, 2004).

Para estimar el calibre de los frutos, a la recolección, se tomo una muestra de 30 frutos sobre que se efectuaron medidas del diámetro ecuatorial con ayuda de un calibre digital de precisión.

Se calculó además el porcentaje de materia seca por fruto. Para ello, se pesaron trozos de una muestra de frutos en estado fresco y se colocaron en estufa de aire forzado (65°C) hasta peso constante (7 días aproximadamente) para estimar el peso de la materia seca. El contenido relativo de humedad se determinó a través de la misma fórmula empleada en la determinación del contenido hídrico relativo de los brotes.

Para la determinación de la carga de cosecha y la productividad del árbol se dividió el número de frutos recolectado y el peso de la cosecha por la STAT, respectivamente.

d) Productividad del agua.

La productividad del agua se definió como el cociente entre la producción, en términos de g de frutos producido por litro de agua aplicado (Barker *et al.*, 2003).

e) Calidad postcosecha.

A fin de determinar los efectos de la aplicación de diferentes regímenes de humedad sobre la calidad de las frutas, se tomó una muestra de 120 frutos de cada unidad experimental y se colocó en cámara de conservación para su posterior análisis.

e.1. Sólidos solubles totales.

Se tomó una muestra de la pulpa de 10 frutos, a la cual se le hizo presión cuidadosamente con los dedos para extraerle el zumo directamente sobre el prisma de un refractómetro digital ATAGO PR-101 con rango de medida de 0 a 45 ° Brix, precisión de $\pm 0,2$ % y compensación automática de temperatura,

con la finalidad de registrar el índice de refracción de la solución. Los valores fueron expresados en °Brix (Silveira *et al.*, 2007).

e.2. Acidez valorable de la pulpa.

Para cada una de las muestras se obtuvo el zumo a partir de trozos de pulpa de manzanas, mediante una licuadora comercial. De éste, una vez centrifugado a 5000 rpm por un lapso de 5 min., se tomó una alícuota de 10 mL de zumo y se colocó en un vaso de precipitados de 100 mL donde se agregaron adicionalmente 10 mL de agua destilada para su posterior valoración con NaOH 0,1 N utilizando fenolftaleína como indicador (Alonso, 2004).

De cada muestra, se realizaron 10 valoraciones, una por cada manzana, de las que se obtuvo el volumen promedio de NaOH consumido.

e.3. Firmeza.

Se realizó por penetrometría, método mecánico de medición destructiva de la consistencia de la pulpa. Para ello se cortó con un cuchillo el epicarpio de 10 frutos en dos puntos opuestos de su parte ecuatorial y, por medio de un penetrómetro Effeggi con un pistón de 11,1 mm de diámetro, se determinó la consistencia de la pulpa. Los valores se expresaron en Newton (Silveira *et al.*, 2007).

e.4 Color de la piel.

Para la determinación del color se ha trabajado en el espacio cromático CIELAB, definido en 1974 por la “Commission de l’Éclairage”. Se obtuvieron las coordenadas L^* , a^* y b^* deducidas a partir de los valores triestímulo X, Y, Z. Además se determinaron los parámetros coloriméticos tono (H) y saturación o croma (C^*) (Figura 4).

Cualquier color se sitúa en un espacio tridimensional. La luminosidad viene representada por la coordenada L^* y puede tener valores incluidos en el intervalo que va de 0 (negro) a 100 (blanco), mientras que las coordenadas de cromaticidad está dada por los valores de a^* y b^* que sitúan el color en un plano perpendicular al eje L^* . En el eje horizontal, los valores positivos de a^*

indican tonalidad roja y los valores negativos verde. En el eje vertical, los valores positivos de b^* indican tonalidad amarilla y negativos, tonalidad azul.

El tono está relacionado con el tipo de color o tonalidad, y es el atributo por el cual se identifica un color como rojo, verde, azul, naranja, etc. Representa el ángulo (en grados), formado entre la recta que une el punto definido por las coordenadas a^* y b^* con el origen de coordenadas, y el eje de abscisas del Diagrama de Hunter (Crassweller *et al.*, 1991).

La saturación, pureza o croma (C^*) es la relación entre la cantidad de color puro y la cantidad de color gris neutro (muy verde, menos verde). También se define como la proporción de contenido cromático en el total de la percepción, es decir, la relación entre la cantidad de tono del color predominante y la cantidad de color gris o la suma de todos los tonos espectrales.

Los parámetros colorimétricos antes mencionados se determinaron con un cromámetro Minolta CR-200 dotado de la base informática Optiview versión 1.1. Las lecturas fueron realizadas tanto sobre la cara del fruto más expuesta al sol como sobre la menos expuesta. Se seleccionaron 10 frutos, al momento de la recolección, por unidad experimental para las determinaciones.

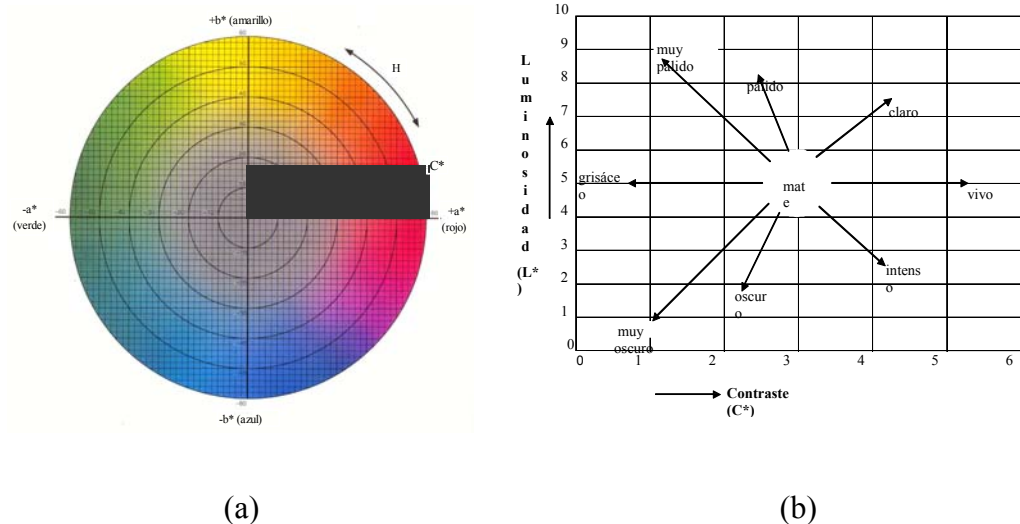


Figura 4. Diagramas de color (a), luminosidad y contraste (b).

e.5 Índice de almidón.

El índice de almidón se realizó sobre una muestra de 10 frutos a la recolección a través de la prueba del yodo-yoduro (reactivo de Lugol) clasificando la reacción en escala de 1 a 10, donde 1 = totalmente negro, fruta inmadura con mayor contenido de almidón y 10= fruta sobremadura, sin presencia de almidón.

El reactivo de Lugol reacciona con el almidón presente en la pulpa del fruto formando un color azul-violeta muy oscuro, lo que permite apreciar las zonas en las que existe almidón.

Una vez seleccionada la muestra se procedió a realizar dos cortes transversales a nivel del ecuador del fruto de manera que se obtuviera una rodaja de aproximadamente 2 cm de grosor. De esta rodaja, se sumergió sólo la cara inferior durante aproximadamente 30 segundos en una solución compuesta por yodo metálico (1,2%) y yoduro de potasio (2,4%). Tras un tiempo de reposo de aproximadamente 5 minutos se realizó la determinación del índice de almidón. Para ello se asignaron valores numéricos en función a la escala antes mencionada y representada en la Figura 5.

e.6 Incidencia de bitter pit tras el almacenamiento.

Tras la recolección, se registró la incidencia de bitter pit durante un período de almacenamiento de 2 meses en cámara bajo frío convencional (2-4°C). De cada unidad experimental se tomaron 60 frutos y se contabilizó la cantidad de manzanas con la presencia de la fisiopatía, que no es más que la aparición de un moteado parduzco que generalmente se manifiesta en la parte calicina del fruto, determinándose el porcentaje de frutos afectados. Las evaluaciones se realizaron con una frecuencia de 15 días. Los frutos dañados por podredumbre se retiraban en cada evaluación (Mayoral, 2003).

f) Análisis de elementos minerales.

Se utilizaron muestras de hojas y frutos para determinar la concentración de elementos minerales en los diferentes órganos. En las hojas, se realizaron análisis

de N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn. Mientras que, en los frutos se determinó Ca, Mg y K.

Muestras de hojas: del tercio medio de los brotes se recolectaron al azar 40- 50 hojas por unidad experimental, a distintos DTPF. Tras un lavado con agua y detergente exento de fosfato y varios enjuagues con abundante agua destilada el material vegetal fue secado a 65°C en estufa de ventilación forzada hasta peso constante. Posteriormente se homogenizó en un molino para hojas y se pasó por un tamiz (60 mallas), para obtener así una molienda homogénea (Aznar, 2001).

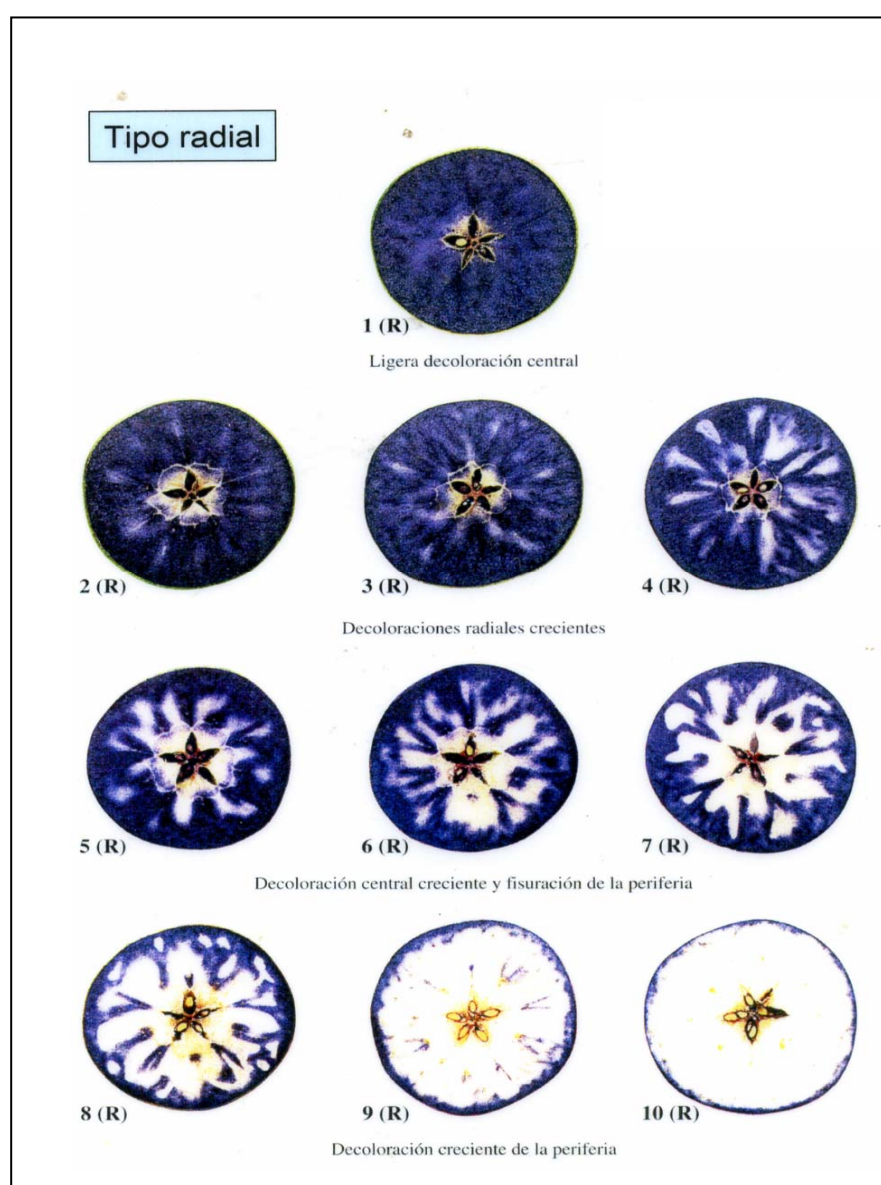


Figura 5. Código de regresión del almidón en manzanas.

Muestras de frutos: 15 frutos por unidad experimental fueron recolectados al azar de la copa de los árboles a distintos DTPF, incluyendo la fecha de recolección. De los frutos, una vez lavados, se extrajo una sección según su eje transversal de aproximadamente 2,5 cm de espesor de la que posteriormente se extrajeron quirúrgicamente el epicarpio y la pulpa (Aznar, 2001).

En el tejido foliar, la determinación de N se realizó por medio de un analizador elemental (LECO INSTRUMENTOS S.L., España), mientras que el resto de elementos minerales fueron determinados mediante ICP-OES, técnica de análisis multielemental que utiliza una fuente de plasma de acoplamiento inductivo para disociar los átomos o iones que constituyen la muestra, excitándolos a un nivel donde emiten luz de una longitud de onda característica. Un detector mide la intensidad de la luz emitida y calcula la concentración de ese elemento, en particular, de la muestra. Específicamente el equipo utilizado fue un ICP-OES thermo ICAP 6000 SERIES (Thermo Scientific, Cambridge, Reino Unido), del servicio de ionómica del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC).

Además, se realizó la determinación de Ca, Mg y K en frutos, mediante un espectrómetro de absorción atómica, modelo Thermo Scientific iCE 3300 AA Spectrophotometer (Cambridge, RU) acoplado a un ordenador para el control del equipo y la adquisición de datos, y disponible en el laboratorio del grupo mixto Nutrición de Cultivos Frutales en la EEAD. Las concentraciones de los distintos elementos tanto en piel como en la pulpa se determinaron interpolando en las correspondientes rectas de calibrado realizadas con patrones preparados a partir de estándares comerciales (Tritisol, Merck) en el intervalo adecuado para la muestra en cuestión.

Alícuotas de 1 y 0,5 g de tejido fresco de pulpa y epicarpio, respectivamente, fueron sometidas a un proceso de digestión (Pequerul *et al.*, 1993) tras la cual se determinaron Ca, Mg y K mediante absorción atómica (Ca y Mg) y emisión atómica (K) con el equipo descrito en el párrafo anterior.

En el caso del Ca y Mg se ajustó la longitud de onda de absorción a 422,67 y 285,21 nm respectivamente. Igualmente se ajustó la posición del mechero

(alineación y altura), caudales de gases, anchura de rendija y resto de parámetros instrumentales.

Para el K se utilizó el mismo equipo de absorción atómica, en configuración de emisión atómica, es decir, sin lámpara, y con el fotomultiplicador preparado para detectar señales de transmisión. La longitud de onda de emisión del elemento de 766,49 nm y con la llama de acetileno/aire.

Análisis Estadístico.

Los datos obtenidos a través de los distintos ensayos fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza propio de cada diseño de experimento utilizado (bloques al azar, cuadrado latino y factoriales), que se corresponden con los siguientes modelos lineales aditivos.

$$\text{Bloques al azar: } Y_{ij} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde, Y_{ij} representa la variable respuesta, μ la media general, ρ_i el efecto del bloque, α_j el efecto del factor a evaluar (riego o dosis de nitrógeno), ε_{ij} el error experimental.

$$\text{Cuadrado latino: } Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \gamma_j + \alpha_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde, Y_{ijk} representa la variable respuesta, μ la media general, ρ_i el efecto de filas, γ_j el efecto de columnas, α_k el efecto del factor a evaluar (riego o dosis de nitrógeno), ε_{ijk} el error experimental.

$$\text{Factorial: } Y_{ijk} = \mu + \rho_i + \alpha_j + \beta_k + (\alpha\beta)_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde, Y_{ijk} representa la variable respuesta, μ la media general, ρ_i el efecto del bloque, α_j el efecto del factor A (tipo de fertilizante), β_k el efecto del factor B (dosis de fertilizante), $(\alpha\beta)_{jk}$ el efecto de la interacción y ε_{ijk} el error experimental.

En los casos en los que se obtuvieron diferencias significativas, se procedió a realizar pruebas de comparación múltiple de medias según el test de Duncan con un

nivel de significación del 5 %, previa verificación de las hipótesis que sustentan los modelos según cada caso.

Adicionalmente, se realizaron análisis de regresión, previa validación de los supuestos de normalidad y homocedasticidad del modelo.

Para algunas variables se realizó un análisis de covarianza (Ancova) según Proc GLM con el fin eliminar el efecto de variables cuantitativas relacionadas con la variable dependiente.

Específicamente, para nutrientes en tejido foliar de los ensayos de fertilización nitrogenada, se realizaron análisis de la varianza con medidas repetidas en el tiempo a través del procedimiento MLG: medidas repetidas del SPSS. Para la ejecución de éste tipo de análisis es importante considerar que los datos obtenidos a través de las observaciones para cada medida repetida no son independientes de las fechas. Es decir, los valores obtenidos en una fecha estarán estrechamente relacionados con los tomados en la medida anterior.

Éste procedimiento de medidas repetidas genera contrastes polinómicos ortogonales, que dan información acerca de la tendencia (lineal, cuadrática ó cúbica) de los datos en el tiempo.

Los análisis estadísticos se han realizado utilizando el programa estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS). V 17.0 para Windows.

Resultados y discusión

Con la finalidad de facilitar el seguimiento del trabajo realizado durante estos 4 años experimentales, hemos presentado los resultados y discusión de los dos grupos de ensayos realizados (ensayos de déficit hídrico y ensayos de fertilización nitrogenada), de manera separada.

Ensayos de irrigación.

Dentro de los objetivos citados en el correspondiente capítulo de esta Memoria de Tesis, se planteó evaluar la respuesta fisiológica y agronómica del manzano, cultivado bajo las condiciones de valle del Ebro, a la aplicación de diferentes regímenes de riego a lo largo de su ciclo productivo.

Las evaluaciones se realizaron durante 4 años experimentales, período en el que llevamos a cabo 4 ensayos con árboles adultos de la variedad 'Golden Reinders'.

Inicialmente, haremos una breve descripción de las características climáticas de las zonas de estudio, del contenido de agua en el perfil del suelo y del estado hídrico de los árboles. Posteriormente, nos referiremos a la influencia del riego deficitario continuado sobre el crecimiento de órganos vegetativos, la capacidad fotosintética foliar, el crecimiento de los órganos reproductivos, la producción, los distintos parámetros que definen la calidad del fruto y por último sobre el estado nutricional de los árboles.

Pluviometría anual.

En la Figura 1 (Pág. 55) observamos los promedios pluviométricos mensuales registrados en los distintos años de ejecución de los ensayos de irrigación. Curiosamente, para el año de 2006 el máximo pluviométrico se registró en verano (120 mm; 28,2 % de la precipitación anual) como consecuencia de las altas precipitaciones caídas al inicio y final de los meses estivales. Para los años 2007 y 2008 el máximo se registró en primavera con 261,4 y 279 mm, respectivamente (67,3 y 49,9 % de la cantidad anual, respectivamente), mientras que, para 2009 fue en invierno, con 72 mm (36,6 % de la precipitación anual). El máximo secundario estacional correspondió al invierno para los años de 2006 y 2007, mientras que para 2008 y 2009 fue en

otoño y primavera, respectivamente. Aunque en 2006 la mayor cuantía fue la estival, para el resto de los años, el verano fue la estación que registró los mínimos estacionales con una marcada escasez de precipitaciones.

Si bien los periodos secos están presentes en cualquier época del año, los registros pluviométricos diarios revelan (datos no mostrados) que alcanzan su máxima duración durante la estación cálida, destacándose, en todos los años, como los meses más secos los de julio y agosto.

En general, la precipitación registrada en la zona de ejecución de los ensayos de irrigación se caracterizó por ser escasa, de marcada irregularidad interanual y con prolongados periodos secos estivales.

Pluviometría durante el período de crecimiento.

La precipitación total acumulada durante el período de realización del ensayo de irrigación de 2006 fue de 227,6 mm. Mientras que, para los años de 2007, 2008 y 2009 se registraron, desde plena floración hasta la recolección de los frutos, 158,2, 231,4 y 47 mm de pluviometría, respectivamente (Figura 1), datos que manifiestan lo reducidas que fueron las precipitaciones durante la ejecución de cada uno de los ensayos.

Además de ello, en la Figura 1 se aprecia que, a lo largo de cada uno de los periodos de estudio, las precipitaciones más abundantes se concentraron entre abril y junio, y los meses más afectados por la escasez de las lluvias fueron julio y agosto.

Evapotranspiración.

En promedio, durante la cada uno de los años de estudio se generaron pérdidas teóricas de agua por evapotranspiración de alrededor de 1090 mm año⁻¹. Su distribución anual agrupa más del 75 % de la ET_0 durante el período de crecimiento de los frutos, concentrada principalmente en los meses estivales (Figura 1).

Balance de humedad.

Al estudiar las variables climáticas como la precipitación y la ET_0 se observa que, en promedio, se generó un déficit anual de humedad que superó al 60% de lo precipitado. Déficit que se concentró durante el período de crecimiento del cultivo.

El balance negativo generado entre las aportaciones por pluviometría y las exigencias potenciales de la atmósfera indica que, muy posiblemente se inicia desde finales del invierno un agotamiento de la reserva de agua de los suelos hasta llegar un período de máximo déficit en los meses de la época cálida. Por tanto, sin riego, bajo estas condiciones, es imposible lograr cosechas de alto rendimiento y calidad comercial.

En general, el conjunto de datos expuestos en la Figura 1 permite deducir que, dada la escasa pluviometría invernal, la sequedad de los veranos y el gran poder evaporante de la atmósfera, la agricultura de Aragón y de forma muy especial la del valle del Ebro, es dependiente totalmente del agua de riego.

Estado hídrico del suelo.

En la Figura 6 se muestra el contenido volumétrico de humedad de los suelos en los primeros 40 cm de profundidad, para cada período de evaluación. Se puede observar una ausencia de respuesta inicial, por parte del suelo, a los tratamientos de irrigación, probablemente a causa del lento agotamiento de la reserva de agua disponible a la salida del invierno y comienzo de la primavera.

En el año 2006, el contenido de humedad de los suelos irrigados con el T50 presentó diferencias respecto al resto de los tratamientos a partir de los 30 DTPF. Sin embargo, los tratamientos T75 y T100 presentaron similar contenido hídrico entre sí hasta los 60 días de iniciarse los tratamientos. Desde este momento, en el que se repuso el 100 % de la demanda de evapotranspiración del cultivo, el suelo mantuvo, de manera general, un contenido hídrico superior en comparación al resto de los tratamientos. El menor contenido de humedad, según los resultados, fue registrado al reponer el 50 % de los requerimientos hídrico de los árboles, aunque éste fue similar al tratamiento T75 a partir de los 90 DTPF hasta la recolección.

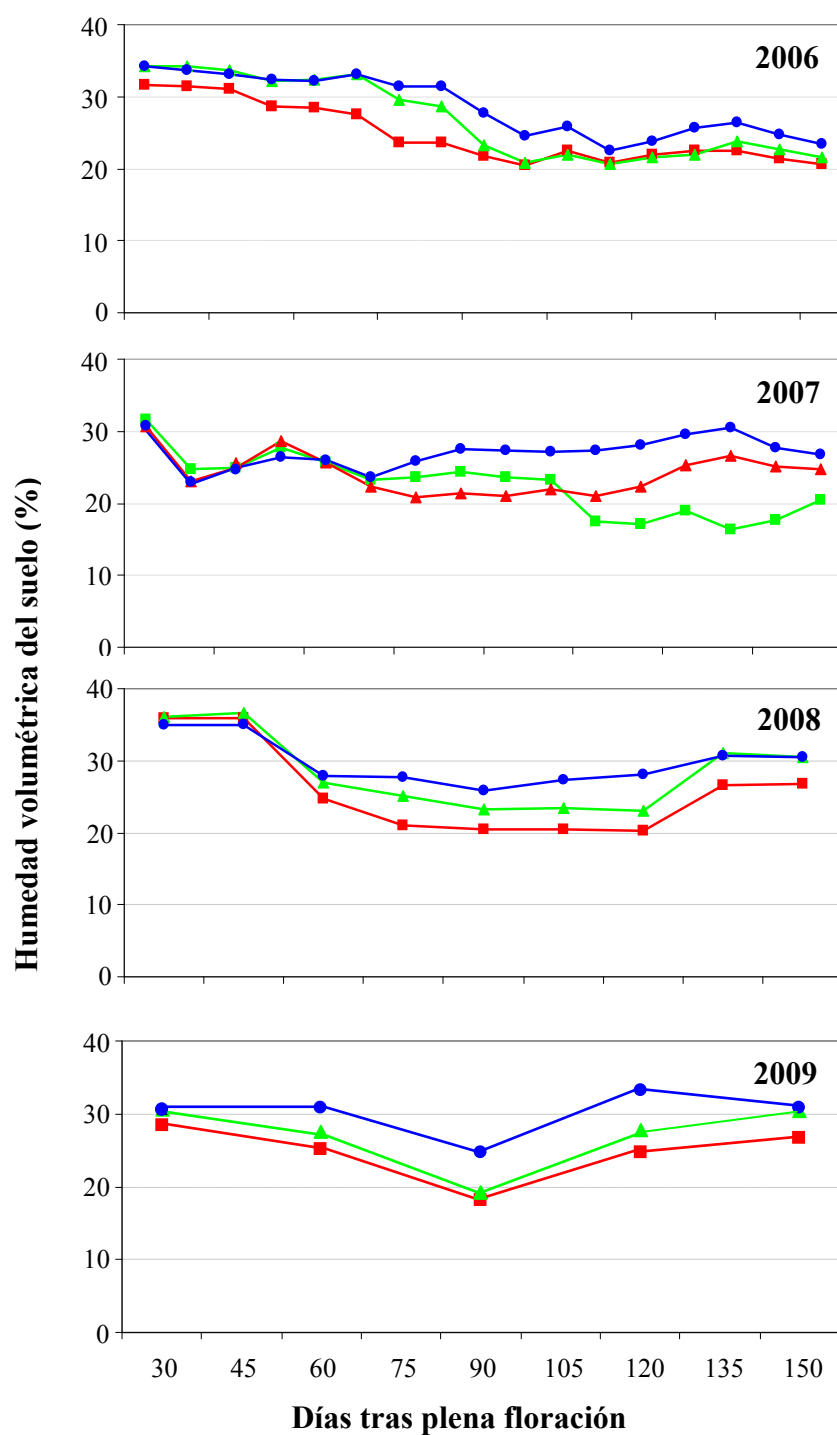


Figura 6. Humedad volumétrica del suelo en los primeros 40 cm de profundidad según los distintos tratamientos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) para cada año de evaluación.

En los años 2007 y 2008, el abatimiento de la humedad del suelo fue posterior a los 60 DTPF, momento a partir del cual se observó una clara diferencia en los

contenidos de humedad acorde a los tratamientos de irrigación. Sólo en el año 2007 se observó que a partir de aproximadamente los 100 DTPF el T50 superó al T75 hasta la recolección.

Para el año 2009 la humedad volumétrica promedio del perfil del suelo, en los primeros 40 cm de profundidad, comenzó a manifestar el efecto de los tratamientos a partir de los 30 - 35 días de iniciarse su aplicación. El suelo regado al 100 % de la demanda de evapotranspiración del cultivo mostró el mayor contenido hídrico a lo largo de la temporada de crecimiento.

La mayor discriminación observada entre el T100 y el resto de los tratamientos de irrigación en el año 2009, en comparación a los años 2007 y 2008, muy posiblemente tengan su justificación en que el 2009 fue un año particularmente seco, lo que seguramente afectó los niveles de agua de reserva en el perfil del suelo.

El contenido volumétrico de agua en función de la profundidad del suelo para cada uno de los años de evaluación se presenta en la Figura 7. En la misma, se observa que la humedad se distribuyó verticalmente a lo largo del perfil del suelo, respondiendo a los tratamientos de irrigación.

El perfil de humedad del suelo demuestra que, para todos los casos, el contenido hídrico fue inferior en los primeros 10 cm superficiales, en comparación al resto de las profundidades evaluadas. Sin embargo, el suelo de la finca La Pardina (ensayo 2006) a partir de los 20 cm de profundidad exhibió, para cada uno de los regímenes hídricos aplicados, un flujo vertical de humedad más uniforme a lo largo del perfil, en comparación al suelo de la parcela La Rinconada (ensayos 2007, 2008 y 2009), donde hubo un incremento progresivo del contenido hídrico con la profundidad (Figura 7).

El comportamiento en el contenido hídrico del suelo de La Pardina posiblemente tenga su justificación en los mayores contenidos de arena del suelo, en comparación a la clase textural del suelo de La Rinconada, que se caracteriza por presentar mayor contenido de arcilla.

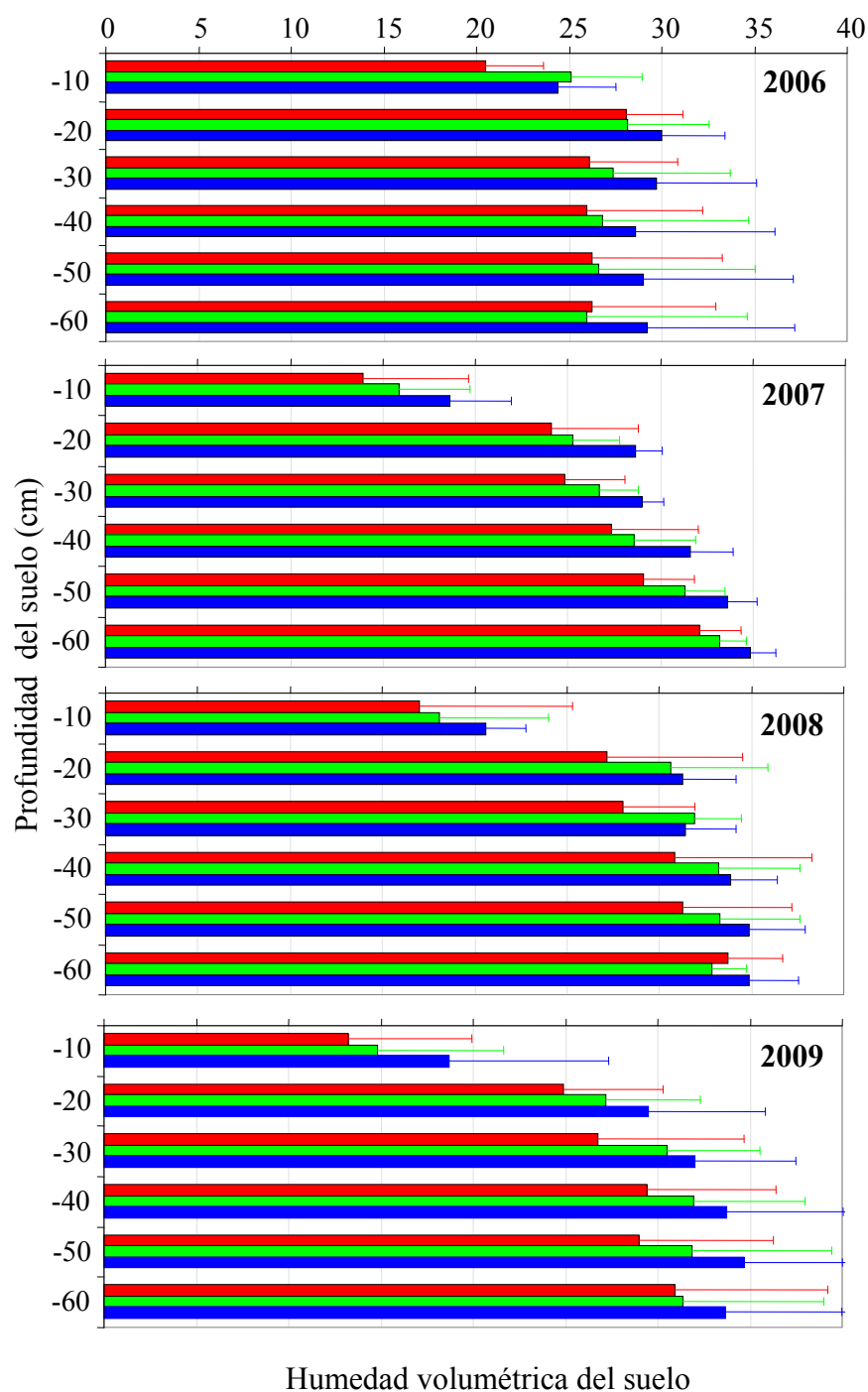


Figura 7. Perfil del contenido promedio de humedad volumétrica registrada durante el período de realización de los ensayos vs. la profundidad para los tres regímenes de riego establecidos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en las 4 estaciones de crecimiento evaluadas.

Estado hídrico de los árboles.

Al tomar en consideración el patrón de distribución del agua dentro del perfil del suelo, en función a los volúmenes de agua empleados, y el hecho de que el manzano injertado sobre patrones como el M9 presenta la mayor actividad radicular en los primeros 30 cm de profundidad (Atkinson, 1974), evidencia que las raíces estuvieron ubicadas, durante todo el período de evaluación, en una zona donde los niveles de humedad estaban en concordancia con los tratamientos aplicados.

En los 4 años de estudio, los valores del potencial hídrico del xilema, obtenidos al mediodía, variaron de acuerdo al suministro hídrico (Tabla 2). Las plantas sometidas a los tratamientos deficitarios de humedad presentaron los menores valores de potencial. Por tanto, se observó una progresión hacia potenciales significativamente más negativos conforme la disponibilidad de agua en el suelo era menor.

En los resultados expuestos en la Tabla 2 observamos que el potencial hídrico de los árboles comenzó a manifestar significativamente ($P \leq 0,05$) el efecto de los tratamientos de irrigación a los 150, 107, 85 y 91 DTPF, en los años de 2006, 2007, 2008 y 2009, respectivamente. Al respecto se ha señalado que, en condiciones de campo, el agotamiento de la humedad de reserva del suelo se produce de manera gradual (Parra-Quezada *et al.*, 2008), por lo que es necesario que transcurra el tiempo para que el potencial hídrico de los árboles llegue a niveles donde se manifieste la influencia de los aportes hídricos realizados.

A su vez, la distribución de las precipitaciones durante el período de realización de los ensayos, pudo tener cierta influencia en la falta de diferencias, desde el punto de vista estadístico, de los valores iniciales de potencial hídrico xilemático de los árboles entre los distintos tratamientos (Tabla 2). Como se observa en la Figura 1, para los años 2007, 2008 y 2009 se registraron, en los primeros 60 días de evaluación, el 74, 77 y 66 % respectivamente, de la precipitación total durante el período de realización de los ensayos; mientras que, junio de 2006 fue particularmente húmedo al registrarse sólo en este mes aproximadamente el 30 % de la precipitación caída durante el curso de la evaluación. Para el resto de los meses

evaluados, independientemente del año de estudio, la precipitación fue escasa y la tasa de ET_o alta.

Tabla 2. Potencial hídrico xilemático (Mpa), en diferentes fechas (DTPF), en plantas de manzano 'Golden Reinders' sometidas a distintos regímenes de riego en 4 ciclos productivos (2006 - 2009).

Tratamientos (ETc)	Ciclo	DTPF				
		105	121	150		
T50	2006	-1,54	-1,91	-1,36 b		
T75		-1,65	-1,79	-1,21 b		
T100		-1,64	-1,65	-0,92 a		
		DTPF				
		60	107	130		
T50	2007	-1,44	-0,94 b	-1,40 b		
T75		-1,29	-0,87 ab	-1,14 b		
T100		-1,26	-0,74 a	-1,09 a		
		DTPF				
		35	63	85	120	160
T50	2008	-0,87	-0,87	-1,17 b	-1,31 b	-0,93 b
T75		-0,92	-0,92	-1,01 ab	-1,23 ab	-0,78 a
T100		-0,86	-0,86	-0,91 a	-1,04 a	-0,82 a
		DTPF				
		57	91	176		
T50	2009	-1,33	-1,49 b	-1,13 b		
T75		-1,25	-1,31 a	-0,87 a		
T100		-1,25	-1,22 a	-0,83 a		

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Tal comportamiento de las precipitaciones al inicio cada una de las temporadas y la pluviometría registrada en el mes de junio de 2006 pudo haber dado lugar a la reposición de agua en el suelo en la zona de las raíces, dejando sin efecto los tratamientos aplicados durante el inicio de los ensayos.

Una contribución importante del estudio de las relaciones hídricas en las plantas es el tratamiento del movimiento del agua desde el suelo hacia las raíces en el continuo suelo-planta-atmósfera. Así, se señala como a uno de los responsables de la disminución del potencial hídrico de las plantas a la falta de disponibilidad de humedad en el suelo, lo cual induce tanto un aumento de la resistencia al flujo de agua hacia las raíces como una disminución del potencial hídrico de las plantas (Medrano y Flexas, 2004).

Diferentes estudios han demostrado que el potencial hídrico xilemático, medido con cámara de presión tipo Scholander, es un buen indicador del estrés hídrico en árboles frutales. Por ejemplo, en manzanos se ha encontrado una buena correlación entre potencial hídrico xilemático y los tratamientos de irrigación (Erf y Proctor, 1987; Naor *et al.*, 1995; Sircelj *et al.*, 2005). Datos similares encontraron Ferreyra *et al.* (2002, 2004) en melocotonero y vides viníferas, respectivamente.

En este sentido, Naor (1998) y Ferreyra *et al.* (2002) comprobaron que la conductancia estomática en nectarina y vid vinífera está altamente correlacionada con el potencial xilemático y con la disponibilidad de agua en el suelo. Por ello, el potencial hídrico xilemático, medido a mediodía, ha sido propuesto como un indicador del estado hídrico de las plantas con fines de diseñar sistema de riego (Naor, 2001; Ferreira *et al.*, 2002).

Según Shackel *et al.* (1997), los árboles de hoja caduca no estresados presentan un potencial hídrico entre -0,5 y -1,0 Mpa, valores alcanzados únicamente por el T100 sólo a los 150 DPTF del año 2006 y a los 176 DTPF del ciclo de 2009, aunque en éste último caso no difirió del T75, y para todos los tratamientos sólo a los 107 DPTF en el año 2007 y a los 35, 63 y 160 DPTF en el año 2008. En el resto de observaciones se registraron valores inferiores a los señalados por los autores antes mencionados a pesar de que el tratamiento (T100) suplía el 100 % de la demanda de evapotranspiración a los árboles. Por otro lado, Naor *et al.* (1995) describieron un rango de potencial hídrico entre -1,6 a -2,1 Mpa para árboles de manzano desarrollados bajo condiciones de deficiencia hídrica, rango alcanzado sólo durante 2006.

Hay que tener presente que, entre diferentes factores, el tipo de suelo, en parte, puede contribuir a reducir o incrementar la absorción de agua por las raíces ya sea a través de la capacidad de reserva, la conductividad hidráulica, la concentración de oxígeno y la resistencia mecánica a la penetración bajo los mismos tratamientos de irrigación (Naor, 2001), lo que puede hacer variar los valores de potencial hídrico que indican deficiencia hídrica en los árboles.

Crecimiento vegetativo.

El crecimiento de los árboles de manzano expresado en términos de longitud de brotes ha sido afectado significativamente ($P \leq 0,05$) por la restricción lineal del riego impuesta a lo largo de las estaciones de crecimiento (Tabla 3). Tal comportamiento, como observamos en la Tabla 3, sólo fue correspondiente, para todos los años, con el número de nudos producidos por brote.

Tabla 3. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre variables morfológicas y contenido de humedad de brotes de manzano 'Golden Reinders' al finalizar cada ensayo.

Tratamientos (ETc)	Longitud (cm)	Sección base (mm ²)	Nº de nudos -	Longitud entrenudos (cm)	Peso seco (g)	Contenido de agua (%)
2006						
T50	57,32 b	-	18,95 b	3,04 b	8,05	46,17
T75	56,06 b	-	17,65 b	3,20 a	7,94	47,33
T100	64,59 a	-	22,35 a	2,92 b	9,01	46,94
2007						
T50	28,37 a	33,6	13,83 a	2,01 a	3,48	47,22
T75	25,67 a	34,3	14,25 a	1,72 a	2,94	48,44
T100	20,93 b	31,5	12,38 b	1,65 b	2,51	46,88
2008						
T50	19,62 b	33,0	12,65 b	1,55	2,30 b	46,13
T75	21,49 b	35,1	14,30 b	1,53	2,64 b	46,36
T100	24,23 a	36,8	18,13 a	1,48	3,89 a	47,94

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Los análisis estadísticos de los datos revelaron que, para las temporadas 2006 y 2008, el crecimiento de los brotes, al igual que el número de nudos, decreció significativamente ($P \leq 0,05$) con la restricción hídrica, no existiendo diferencias significativas entre los tratamientos deficitarios de humedad (T50 y T75). De igual forma, para el ciclo de 2007, la longitud de los brotes y el número de nudos no difirió entre los tratamientos deficitarios, sin embargo, paradójicamente, sus medias fueron significativamente superiores ($P \leq 0,05$) a la de los árboles regados al 100 % de su demanda hídrica (Tabla 3). Por su parte, la longitud de los entrenudos tendió a disminuir con la aportación hídrica, manifestando el efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos sólo en las temporadas de 2006 y de 2007.

Por otra parte, el riego deficitario aunque no afectó significativamente la capacidad retención de humedad de los brotes ni el área de la sección basal de los mismos, si lo hizo con el peso seco, aunque sólo en el año 2008 (Tabla 3).

La aplicación del riego deficitario en frutales surgió con la idea de reducir el crecimiento vegetativo y con ello los costes que generaría la poda. Su aplicación se inició en melocotoneros (Chalmers *et al.*, 1981) y las investigaciones han puesto de manifiesto que, ésta estrategia de riego puede ser exitosa cuando es aplicada en periodos concretos de la vida de los cultivos. Por ejemplo, en melocotoneros, como para cualquier frutal con carozo, los árboles permiten la aplicación del RDC durante la fase II del desarrollo de los frutos, la cual ha demostrado ser bastante insensible al déficit hídrico (Chalmers *et al.*, 1981; Li *et al.*, 1989; Girona *et al.*, 2004). Además, como esta fase es coincidente con una alta tasa de crecimiento vegetativo y expansión de los brotes, la aplicación del estrés hídrico permite controlar el crecimiento de las estructuras vegetativas, reduciéndose así el impacto negativo de la deficiencia hídrica sobre la producción y calidad de la cosecha.

Trabajos posteriores a los de Chalmers *et al.* (1981) en estudios realizados sobre especies perennes como peral (Chalmers *et al.*, 1986; Mitchell *et al.*, 1984), olivo (Alegre *et al.*, 1997) manzano (Anconelli *et al.*, 2008) y sobre el mismo melocotonero (Li *et al.*, 1989; Mitchell y Chalmers, 1982; López *et al.*, 2008) han arrojado resultados prometedores con el uso del riego deficitario.

Si bien, Antonelli *et al.* (2008) han demostrado que, en manzanos como 'Gala' y 'Fuji', el RDC además de controlar efectivamente el crecimiento vegetativo, no afecta el rendimiento ni el tamaño de los frutos, esta es una especie de alta de alta sensibilidad a la sequía ya que, en cualquier momento de su ciclo, los efectos directos de la falta de agua sobre el crecimiento del fruto son irreversibles. No obstante, hasta ahora nuestros resultados indican que el riego deficitario sostenido parece ser beneficioso para controlar el crecimiento vegetativo de los manzanos 'Golden Reinders' bajo las condiciones de estudio.

En este sentido, los resultados de la experimentación realizada durante las temporadas 2006 y 2008 (Tabla 3) concuerdan con lo señalado por Irving y Drost (1987) quienes describen una reducción del crecimiento de los brotes de manzano 'Cox's Orange Pippin', bajo deficiencia hídrica, atribuyendo la reducción a la finalización anticipada del crecimiento, resultados que, según veremos más adelante, sólo concuerdan con los obtenidos para el año de 2006. Por su parte, Talluto *et al.* (2008) han manifestado que la disminución del crecimiento del manzano 'Pink Lady' bajo tratamientos deficitarios de riego está más probablemente asociada con la reducción del número de nudos que con la reducción de la longitud de los entrenudos, resultados acordes con este estudio.

Al representarse el crecimiento de los brotes en función del tiempo observamos que se han ajustado ($P \leq 0,01$) a una curva sigmoidea simple (Figura 8). Los altos valores obtenidos para el coeficiente de determinación (Tabla 4) nos han indicado que el modelo de regresión utilizado ha sido capaz de explicar la variabilidad del crecimiento de los brotes terminales en términos de longitud a partir de los parámetros calculados. Así, durante las primeras fases del desarrollo, la velocidad de crecimiento de los brotes es lenta y luego se incrementa hasta alcanzar un máximo cuya ocurrencia, en este caso, varía con el aporte hídrico al suelo, para posteriormente disminuir.

En la Figura 8 se aprecia además que los brotes de las plantas sometidas a déficit hídrico a lo largo de la estación de 2006, manifestaron el cese del crecimiento días antes que las plantas regadas al 100 % de su demanda de evapotranspiración.

Ello sugiere que el déficit hídrico afecta aspectos del desarrollo de las plantas. Sin embargo, para el ciclo de crecimiento transcurrido durante el 2007 los resultados fueron incongruentes en comparación a los antes mencionados debido a que, las plantas regadas al 100 % de su exigencia hídrica exhibieron el cese de su crecimiento previamente, en comparación a los tratamientos T50 y T75.

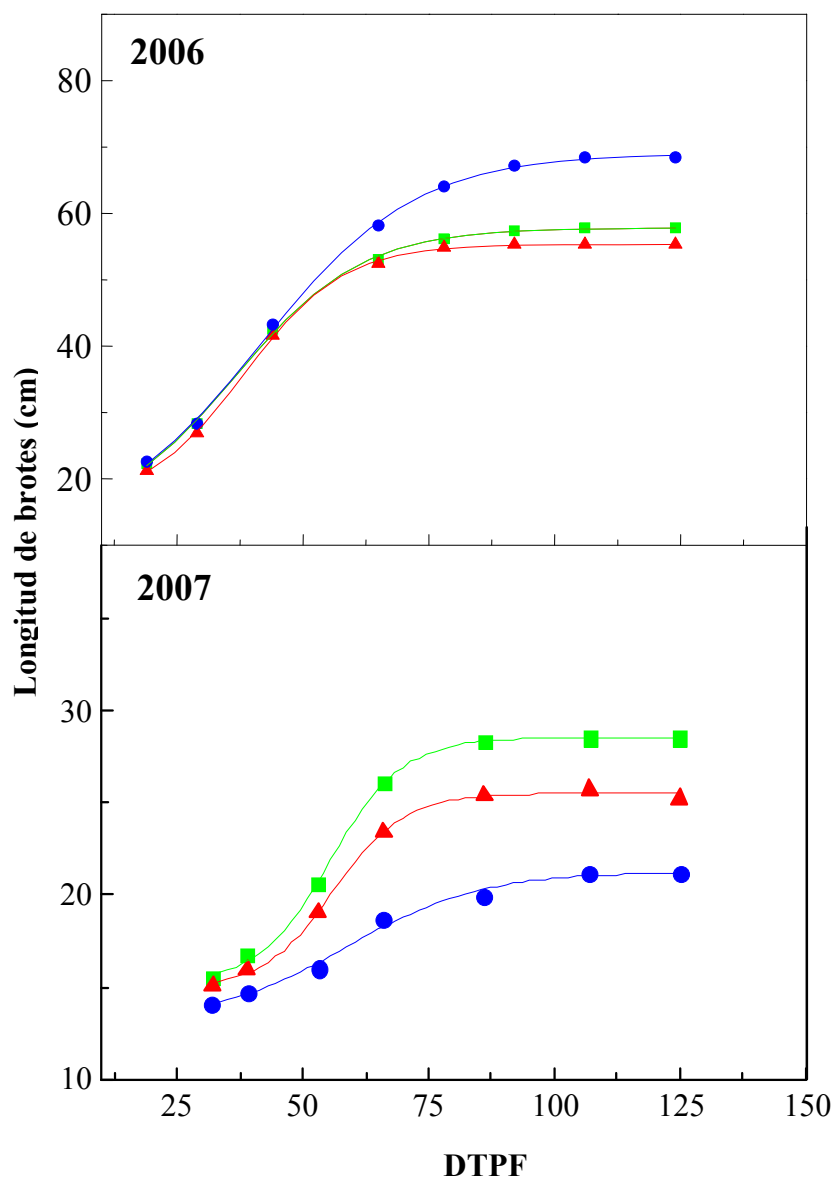


Figura 8. Evolución del crecimiento de los brotes de manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en las temporadas de 2006 y de 2007.

El análisis estadístico de los parámetros que han resultado del ajuste de las curvas sigmoideas anteriormente señaladas mostraron que únicamente la máxima razón de crecimiento de los brotes mostró efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos sólo para el año de 2007, al ser inferior en las plantas regadas con el 100 % de su demanda de evapotranspiración, en comparación al resto de los tratamientos, que se comportaron de forma estadísticamente similar (Tabla 5).

Tabla 4. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos 'Golden Reinders'.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Ecuación	Coefficiente de determinación
T50	2006	$Y = \frac{58,2}{1 + e^{-0,06794 * (x-29,6)}}$	$r^2 = 0,998$
T75		$Y = \frac{55,8}{1 + e^{-0,07875 * (x-29,9)}}$	$r^2 = 0,999$
T100		$Y = \frac{69,9}{1 + e^{-0,05753 * (x-35,5)}}$	$r^2 = 0,999$
T50	2007	$Y = \frac{30,1}{1 + e^{-0,05058 * (x-33,2)}}$	$r^2 = 0,971$
T75		$Y = \frac{27,3}{1 + e^{-0,04402 * (x-30,5)}}$	$r^2 = 0,972$
T100		$Y = \frac{24,6}{1 + e^{-0,02874 * (x-23,0)}}$	$r^2 = 0,971$

Y: Longitud del brote en cm.

X: Tiempo en días.

Si bien, los parámetros restantes no manifestaron el efecto de los niveles hídricos ensayados, hemos observado que la máxima longitud teórica de los brotes (C) al igual que los DTPF en los que ocurre la máxima razón de crecimiento (M)

tendieron a ser superiores con el suministro del 100 % de las exigencias hídricas de los árboles en el año de 2006. Contrario a ello, para la temporada de 2007 la restricción hídrica promovió su incremento (Tabla 5).

Tabla 5. Máxima longitud de brotes (C), fecha de máximo crecimiento (M) y máxima razón de crecimiento (m) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos durante los ciclos productivos de 2006 y de 2007.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Parámetros de crecimiento		
		C (mm)	M (DTPF)	m (mm día ⁻¹)
T50	2006	58,2	29,6	0,99
T75		55,8	30,0	1,07
T100		69,9	35,5	1,00
T50	2007	30,1	33,2	0,38 a
T75		27,3	30,5	0,30 a
T100		24,7	23,09	0,16 b

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración

Al observar los potenciales hídricos xilémicos de los árboles durante el ciclo de 2007 (Tabla 2; Pág 92) nos encontramos que, independientemente de la fecha de evaluación, los valores tendieron a ser menos negativos en la medida en que se incrementó la adición de agua al suelo, por lo que las diferencias obtenidas en el crecimiento vegetativo para la temporada de 2007 no han debido ser consecuencia directa del recorte del riego. Posiblemente, si observamos la Tabla 19 (Pág 121), la mayor productividad de los árboles haya propiciado un incremento en la competencia por fotoasimilados, causando brotes de menor desarrollo en la media en que se incrementó el suministro hídrico. Estos resultados ponen de manifiesto que las limitaciones de origen hídrico no siempre son las responsables de la merma en el crecimiento de los árboles.

Si bien, el riego deficitario impuesto a los árboles de manzano a lo largo de la temporada de crecimiento afectó ciertos parámetros de crecimiento a nivel de brotes,

los regímenes hídricos aplicados no causaron efectos significativos sobre al área foliar individual, ni sobre peso seco de las hojas, ni sobre el peso específico foliar. Únicamente en el año 2007, a los 106 DTPF, se observó que la superficie de cada hoja y el peso seco promedio en los árboles del T50 fueron significativamente inferiores ($P \leq 0,05$) a los de los tratamientos T75 y T100, que a su vez resultaron ser similares (Tabla 6).

Tabla 6. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre el área foliar y el peso seco y peso foliar específico de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas de las temporadas 2006, 2007 y 2008.

Tratamiento (ETc)	Área foliar (cm ²)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)	Área foliar (cm ²)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)
2006		81 DTPF				
T50	38,5	0,34	8,9	-	-	-
T75	42,8	0,37	8,5	-	-	-
T100	42,2	0,37	8,8	-	-	-
2007		75 DTPF		106 DTPF		
T50	33,3	0,34	10,17	28,6 b	0,31 b	10,85
T75	37,2	0,36	9,60	36,0 a	0,41 a	11,21
T100	33,4	0,33	9,84	40,2 a	0,42 a	10,55
2008		75 DTPF		120 DTPF		
T50	56,7	0,43	7,67	61,8	0,63	10,18
T75	63,4	0,47	7,47	62,4	0,59	9,50
T100	64,2	0,48	7,56	57,3	0,56	10,07

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración

Por otra parte, al evaluar el peso seco de la hoja por unidad de área foliar hemos observado que la restricción hídrica sostenida tiende a incrementar el peso

foliar por unidad de área, aunque este comportamiento no ha resultado ser estadísticamente significativo (Tabla 6).

Los cambios en las características foliares son quizás las adaptaciones morfológicas más importantes ocurridas en plantas sometidas a cambios ambientales (Esau, 1977), y aunque generalmente el área foliar es uno de los parámetros que generalmente resulta ser más afectado en la mayoría de las plantas por la deficiencia hídrica (Hsiao, 1973), los resultados obtenidos en este trabajo prácticamente no reflejaron el efecto de los tratamientos hídricos sobre las características biométricas del tejido foliar.

Talluto *et al.* (2008) han puesto de manifiesto que el crecimiento foliar no se ve afectado por la DPR, aunque el área foliar y el peso seco de la hoja tiende a disminuir. En este sentido, Belaygue *et al.* (1996) han señalado que el grado de reducción del área foliar es dependiente del momento y duración del período de estrés. Por lo tanto, las escasas diferencias en las características foliares evaluadas en este trabajo ha podido deberse a que las extracciones del agua de reserva del suelo a inicios de la temporada, así como el agua de lluvia precipitada durante los períodos de primavera no hayan permitido alcanzar un valor umbral de potencial hídrico xilemático a partir del cual el crecimiento de las hojas sea afectado.

Por otra parte, en la Tabla 7 se observa el efecto de los regímenes de humedad ensayados sobre el desarrollo de la copa de los árboles de manzano. Como se aprecia, el flujo de radiación que traspasó la copa incrementó con la restricción hídrica, aunque sólo se obtuvo efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos a los 120 DTPF de la temporada 2009.

Este menor desarrollo de la copa de los árboles, estimado a partir de la cantidad de radiación solar que es capaz de llegar a la base de los árboles, confirma que el riego deficitario sostenido permite controlar el crecimiento del manzano bajo las condiciones edafoclimáticas de la zona de estudio, respuesta que es deseable en plantaciones de alta densidad ya que permite optimizar la intercepción de luz por los árboles y mejorar el éxito económico (Chalmers *et al.*, 1981).

Tabla 7. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la intercepción de la radiación fotosintéticamente activa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) registrada en diferentes fechas.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Radiación fotosintéticamente activa		
		DTPF		
		146		
T50	2007	-	-	602,60
T75		-	-	560,98
T100		-	-	516,74
		60	120	160
T50	2009	455,56	634,29 a	331,82
T75		310,90	441,83 b	284,76
T100		414,60	398,19 b	274,65

En la misma columna, medias seguidas igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración.

Al evaluar la influencia del riego deficitario, aplicado durante 3 años consecutivos sobre los mismos árboles, encontramos que el crecimiento relativo del tronco, en términos de sección de área, fue sensiblemente menor con la reducción del aporte hídrico (Tabla 8).

Tabla 8. Incremento relativo (%) de la sección transversal de área del tronco (ISTAT) de manzanos sometidos a diferentes regímenes hídricos durante tres temporadas consecutivas (2007- 2008- 2009).

Tratamientos (ETc)	ISTAT ciclo 2007	ISTAT ciclo 2008	ISTAT ciclo 2009
T50	0,72 b	24,36 b	2,28b
T75	2,45 a	34,91 a	1,73 b
T100	0,71 b	34,45 a	3,42 a

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos en este estudio señalan un efecto acumulativo de los tratamientos al observarse que los árboles regados con las dosis de agua más altas

(T100 y T75) manifestaron significativamente ($P \leq 0,05$), a partir del segundo año de tratamiento (ciclo de 2008), mayor incremento relativo de la STAT en comparación a los regados al 50 % de su demanda de evapotranspiración. Para el ciclo de 2009, sólo los árboles regados bajo esquema comercial (T100) tuvieron el crecimiento más vigoroso, en comparación a los cultivados bajo regímenes deficitarios de humedad, que no difirieron significativamente entre sí (Tabla 8).

En diversas especies de frutales se ha observado reducción del crecimiento del tronco como consecuencia de la aplicación de riegos deficitarios (Irving y Drost, 1987; Castel, 1994; Girona *et al.* (2005). Este menor crecimiento del tronco está asociado a la reducción del tamaño total de árbol ya que la STAT suele estar bien correlacionada con el desarrollo de la parte aérea del árbol (Westwood y Roberts, 1970). Por tanto, nuestros resultados ratifican que a través del manejo del recurso hídrico es posible controlar el crecimiento vegetativo de los árboles de manzano 'Golden Reinders' bajo las condiciones agroclimáticas en las que se ha realizado este estudio.

Capacidad fotosintética foliar y contenido de carbohidratos.

La aplicación de niveles hídricos deficitarios tendió a inducir una disminución en la actividad fotosintética neta en comparación a los árboles regados al 100 % de su demanda hídrica. Sin embargo, los efectos fueron estadísticamente significativos ($P \leq 0,05$) únicamente al final del período de crecimiento de 2008 y durante la temporada de 2009 (Tabla 9).

En manzanos y otras especies de plantas, la tasa fotosintética decrece con disminuciones progresivas del potencial hídrico (De Swaef *et al.*, 2009; Baeza *et al.*, 2007; Zgallai *et al.*, 2005), lo que conduce a una disminución de la fuente de carbono (Syvertsen y Lloyd, 1994). Sin embargo, al parecer, nuestros resultados indican que el crecimiento vegetativo es más susceptible a la disminución de los aportes hídricos en comparación a la fotosíntesis.

Al considerar la relación entre la tasa de fotosíntesis neta foliar y el potencial hídrico del xilema medido a mediodía (Figura 9), hemos observado la existencia de

un ajuste lineal entre ambas variables. Así, con aumentos del potencial hídrico desde -1,91 a -0,74 Mpa se incrementó la fijación de carbono.

Tabla 9. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la tasa fotosintética ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) en árboles de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras la floración.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Tasa fotosintética			
		DTPF			
			105	121	
T50	2006	-	15,3	7,8	
T75		-	14,0	11,1	
T100		-	13,9	11,7	
		47	74	109	
T50	2007	17,4	17,8	17,1	
T75		19,4	17,3	17,8	
T100		18,7	17,8	17,4	
		41	63	120	153
T50	2008	14,1	14,2	15,4	12,3 b
T75		14,0	14,2	16,0	15,2 a
T100		14,1	16,2	16,5	17,2 a
		57	91	134	176
T50	2009	12,38 b	13,99 b	14,52 b	10,88 b
T75		12,99 b	16,56 a	17,35 a	10,89 b
T100		15,91 a	17,33 a	17,58 a	14,46 a

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración.

El análisis del conjunto de datos produjo la relación $Y = 5,829X + 21,169$, con estadístico r^2 de 0,392. A pesar de resultar el ajuste del modelo estadísticamente significativo ($P \leq 0,01$), el bajo valor del coeficiente de determinación indica que la respuesta de la tasa fotosintética se caracteriza por ser multifactorial.

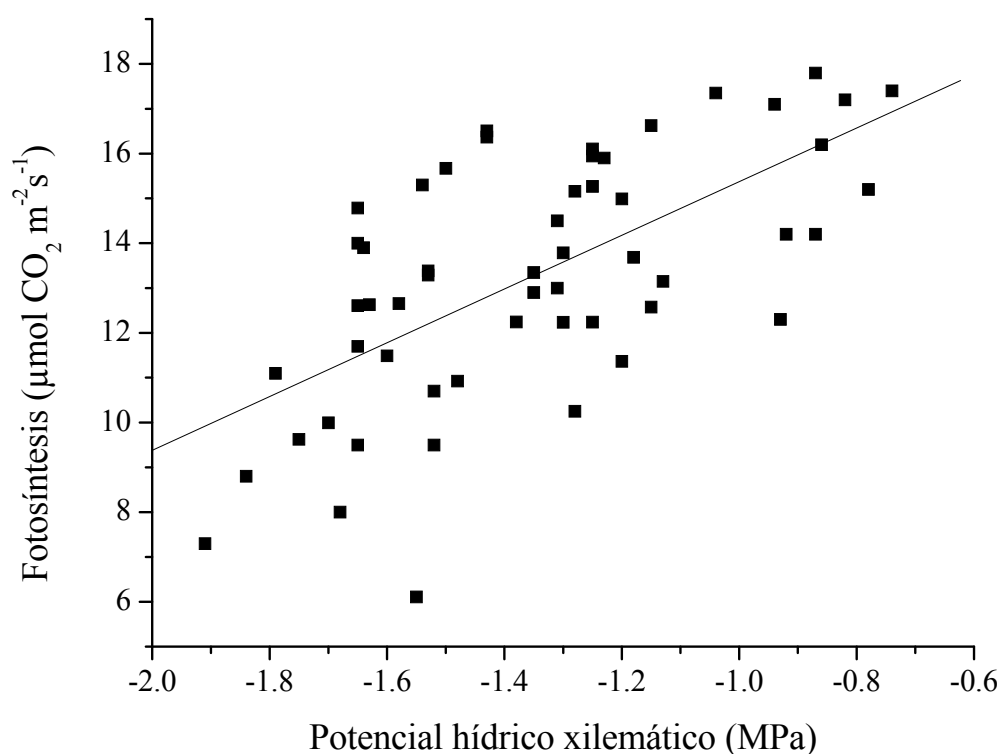


Figura 9. Relación entre la tasa de fotosíntesis foliar y el potencial hídrico xilemático medido al mediodía.

En nuestro estudio, la conductancia estomática y la transpiración de las hojas de manzanos sometidas durante 3 años consecutivos a los tratamientos hídricos manifestaron significativamente ($P \leq 0,05$) la influencia de la aportación hídrica al suelo a los 57 y 91 DTPF al disminuir por efecto de la deficiencia hídrica (Tabla 10). Sin embargo, al final del ciclo (176 DTPF) se observó el mismo comportamiento que en las evaluaciones anteriores, a pesar de no detectarse influencias estadísticamente significativas de los tratamientos.

Se ha señalado que cuando las plantas están sometidas a déficit hídricos uno de los primeros eventos que ocurren es el cierre de estomas como respuesta de la migración de compuestos químicos sintetizados en las raíces deshidratadas, como por ejemplo el ABA (Gowing *et al.*, 1990; Chaves *et al.*, 2002). En las plantas, las raíces son probablemente los órganos que primero captan el estrés hídrico y sintetizan ABA, que posteriormente será transportado a las hojas y producirá el cierre de los estomas. En consecuencia, el nivel de carbono intercelular decrece como resultado de la

limitación de su difusión en la hoja, lo que puede inducir una regulación a la baja de la fotosíntesis (Chaves, 1991; Flexas *et al.*, 2004).

Tabla 10. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la conductancia estomática de CO₂ y la tasa de transpiración (mmol m⁻² s⁻¹) en árboles de manzano en diferentes momentos de la temporada 2009.

Tratamientos (ETc)	Conductancia estomática			Transpiración		
	DTPF					
	57	91	176	57	91	176
T50	0,188 b	0,291 b	0,254	5,131 b	5,585 b	8,624
T75	0,210 b	0,433 a	0,362	5,422 b	6,645 a	9,788
T100	0,328 a	0,471 a	0,373	6,888 a	6,648 a	10,014

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración.

Los descensos en la capacidad fotosintética observados en 2009 (Tabla 9), posiblemente se hayan debido a la sensibilidad de la conductancia estomática a la deficiencia hídrica (Tabla 10). Sin embargo, la deficiencia hídrica, a pesar de promover un descenso en el potencial hídrico xilemático en diferentes momentos de las temporadas 2006, 2007 y 2008 (Tabla 2; Pág 92), sólo causó ligeras disminuciones en la capacidad fotosintética de los árboles, lo que nos indica que el nivel de estrés que pudieron haber ocasionado los tratamientos deficitarios no fue lo suficientemente alto como para causar limitaciones estomáticas en la tasa de asimilación de CO₂ de manera contundente durante los primeros 3 años de estudio.

A la vista de los resultados obtenidos, puede decirse que, en condiciones de déficit hídrico, como las aquí presentadas, la conductancia estomática parece imponer cierto control sobre la fotosíntesis como mecanismo de defensa ante la desecación, tal como ha manifestado Chaves (1991). Sin embargo, se ha señalado que la apertura estomática es dependiente, además del contenido de agua del suelo, de factores ambientales que afectan directamente la presión de vapor del agua en la hoja y a la presión de vapor de agua en la atmósfera, tales como: como la radiación solar incidente, la temperatura, la humedad relativa y el viento. Al respecto podemos resaltar que 2009 se caracterizó por presentar, durante el período del ensayo, los

menores registros pluviométricos, la más alta temperatura máxima mensual promedio, la mayor velocidad del viento máxima mensual promedio, la mayor radiación solar global media mensual y la mayor ET_o , en comparación al resto de los años ensayados. No obstante, ésta es solamente una primera aproximación de la respuesta fotosintética al déficit hídrico ya que existen muchos otros factores involucrados, tal como ha sido demostrado por el bajo valor del coeficiente de determinación (r^2) obtenido al relacionar la tasa de fotosíntesis neta foliar y el potencial hídrico xilemático medido al mediodía (Figura 9).

Dada la relación entre los estomas y la cantidad de agua evapotranspirada, la densidad estomática ha sido considerada como un importante parámetro ecofisiológico, especialmente en ambientes donde existe limitación hídrica (Poulos *et al.*, 2007; Xu y Zhou, 2008). Así, la conductancia estomática además de estar determinada por el grado de apertura de los estomas, está influenciada por la densidad de estos (Hetherington y Woodward, 2003).

En nuestro estudio, la densidad estomática, medida en las partes apical, media y basal de la cara abaxial de hojas de manzanos, expuestos durante 3 años consecutivos a los regímenes de irrigación ensayados (Tabla 11), muestra que los tratamientos aplicados no afectaron significativamente la densidad estomática. Los valores registrados están de acuerdo con lo señalado por Slack (1974) que registró para el manzano entre 250 y 370 estomas por mm^2 .

Tabla 11. Densidad estomática ($\text{N}^\circ \text{mm}^{-2}$) del tercio basal, medio y apical de hojas de manzanos sujetas a diferentes regímenes de humedad (ciclo de 2009).

Tratamiento (ETc)	Basal	Media	Apical
T50	314	315	269
T75	325	311	254
T100	311	327	283

Diversos estudios sugieren que la densidad estomática es relativamente plástica y, por lo tanto, potencialmente adaptativa a los cambios ambientales

(Carpenter y Smith, 1975; Sekiya y Yano, 2008). Así, distintos estudios han manifestado modificaciones en el número de estomas por unidad de área foliar por las condiciones de humedad del suelo (Bañón *et al.*, 2004; Xu y Zhou, 2008; Fraser *et al.*, 2009); incluso en manzano se han descrito variaciones en la densidad estomática a consecuencia de diferentes tratamientos de irrigación (Pavol, 1995). Sin embargo, aunque algunos autores manifiesten que la densidad estomática pueda estar afectada por los factores ambientales dominantes durante el desarrollo de las plantas, para Nadeau y Sack (2002), esta variable se encuentra regulada por un evidente control genético, lo cual podría justificar la ausencia de efectos de los tratamientos.

En nuestro caso, la ausencia de diferencias en el número de estomas por unidad de área nos indican que el control de la difusión de CO₂, observado en 2009, estuvo sólo bajo la influencia del grado de apertura de los estomas. Aunque hay que asumir que el uso de la conductancia estomática para predecir la respuesta de la fotosíntesis al estrés hídrico es una simplificación, y puede que no sea totalmente correcta, ya que existen otros muchos factores involucrados en el proceso fotosintético (Schulze, 1986).

Se ha señalado que la concentración de clorofila es un componente de la capacidad fotosintética de las hojas (Rao *et al.*, 2001). Por ello, se indica que la deficiencia hídrica, al reducir la concentración de clorofilas foliares, afecta la capacidad de asimilación de CO₂ (Javadi y Arzani, 2008). Sin embargo, en este estudio, las variaciones en la actividad fotosintética no fueron debidas a los cambios en los contenidos de clorofila (Tabla 12).

En la literatura existen resultados diferentes en relación al efecto de la deficiencia hídrica sobre las unidades SPAD del tejido foliar. en este sentido, Niu *et al.*, 2007 describieron que bajo condiciones moderadas de sequía, el contenido relativo de clorofilas se incrementa con la disminución del potencial hídrico en *Lupinus haverdii*. Por el contrario, Zulini *et al.* (2007) observaron que los valores de SPAD entre el control y las plantas de vid estresadas hídricamente eran similares.

Como no toda la energía radiante absorbida por la clorofila puede ser usada en la fotosíntesis, el exceso de ésta es disipada en forma de calor o bien vuelve a ser

emitida como radiación fotónica. Esta emisión, conocida como fluorescencia de la clorofila, fue evaluada en los árboles sometidos a deficiencia hídrica durante 3 ciclos productivos consecutivos.

Según los datos obtenidos (Figura 10), el índice F_v/F_m , que es un estimador de la integridad del complejo *PSII* (Azcón-Bieto *et al.*, 2000), no manifestó diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las fecha de evaluación. En el mes de agosto se observó un descenso en el cociente F_v/F_m para todos los tratamientos, aunque, como ya se ha mencionado, los valores no han diferido, desde el punto de vista estadístico.

Tabla 12. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre el índice de clorofila (SPAD) en hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras plena floración (ciclos productivos 2006 - 2009).

Tratamientos (ETc)	Ciclo	SPAD			
		DTPF			
			105	121	
T50	2006	-	50,1	53,3	
T75		-	51,6	52,1	
T100		-	52,6	53,4	
		47	74	109	
T50	2007	48,8	50,5	54,0	
T75		47,0	50,8	54,5	
T100		50,9	51,1	54,6	
		41	63	120	153
T50	2008	43,4	44,8	52,3	52,3
T75		42,6	44,0	50,4	50,7
T100		42,3	44,6	50,8	52,4
		57	91	134	176
T50	2009	50,25	52,15	54,48	52,36
T75		49,18	52,26	54,70	53,56
T100		51,98	52,14	54,75	55,31

DTPF: Días tras plena floración.

Los resultados obtenidos, dentro del rango 0,75 – 0,85, que según Azcón-Bieto *et al.* (2000) es característico de hojas sanas que no estén sufriendo estrés, nos sugieren que los regímenes deficitarios de humedad empleados en este trabajo no provocaron daños a nivel del fotosistema II ya que el índice F_v/F_m no manifestó diferencias significativas respecto al control, resultados que son coherentes con los obtenidos por Massacci y Jones (1990) para manzano 'Green-leaves' y para especies no frutales como el álamo (Xiau-Ming y Kakubari, 2001).

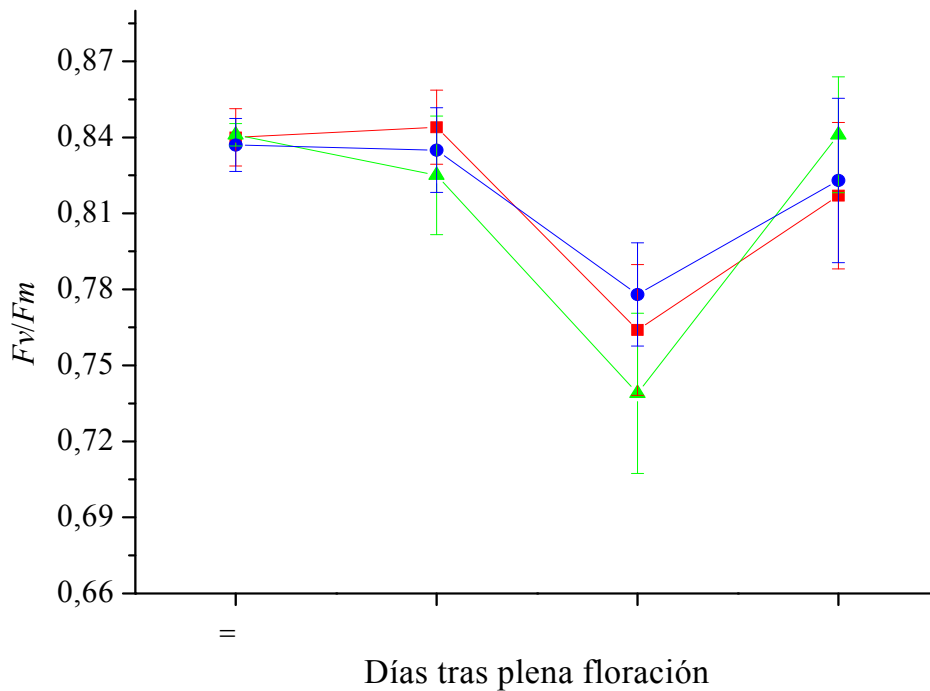


Figura 10. Relación fluorescencia variable/fluorescencia máxima clorofílica (F_v/F_m) de hojas adaptadas a la oscuridad de árboles de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)).

Por otra parte, el menor rendimiento de las reacciones fotoquímicas del *PSII* observada a los 134 DTPF (20 de agosto) (Figura 10) para todos los tratamientos fue atribuido un proceso de regulación o aclimatación a consecuencia de las temperaturas, que, para la fecha de evaluación, se caracterizaron por ser particularmente altas en comparación al resto de los momentos evaluados.

Además, nuestros resultados indican que, a pesar de que la tasa de asimilación de CO_2 y la conductancia estomática, fueron significativamente menores con la restricción hídrica al cultivo, tal disminución no fue motivada por fallas en la

integridad del *PSII*. Por lo tanto, bajo las condiciones edafoclimáticas estudiadas, el índice F_v/F_m en hojas de manzano 'Golden Reinders' adaptadas a un período de oscuridad no es un indicador sensible de la respuesta de las plantas dentro de los niveles hídricos ensayados.

Al evaluar la influencia de los regímenes hídricos ensayados sobre la concentración de almidón en hojas encontramos que sólo hubo efecto significativo de los tratamientos ($P \leq 0,05$) a los 120 DTPF en la temporada de 2008, al resultar superior el nivel de almidón en el T100 y T75, en comparación al tratamiento donde se aportó sólo el 50 % del requerimiento hídrico del cultivo (Tabla 13).

Apreciamos además en la Tabla 13 que, para el resto de las observaciones, aunque no se detectaron diferencias significativas, la concentración de almidón en las estructuras vegetativas tendió a incrementarse con la restricción hídrica al suelo, aunque no para los brotes del ciclo de 2008.

Tabla 13. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de almidón (mg g^{-1} MS) en hojas analizadas en 2 fechas (120 DTPF y Recolección), brotes en invierno y frutos, al momento de la recolección.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Almidón			
		Hojas		Brotes	Frutos
		120 DTPF	Recolección	Invierno	Recolección
T50	2007	30,57	38,40	31,87	3,35
T75		28,89	35,71	23,87	3,39
T100		16,78	29,81	28,21	3,80
T50	2008	38,33 b	51,20	21,27	19,99
T75		46,44 a	43,02	23,69	15,02
T100		44,88 a	49,17	26,86	13,67

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración.

La tendencia a la acumulación de almidón en las estructuras vegetativas durante el ciclo productivo de 2007 con el menor aporte de humedad al suelo (Tabla 13), pudo ser consecuencia de la disminución de la productividad de árboles bajo restricción hídrica (Tabla 19; Pág. 121). Tal baja en la productividad pudo haber

propiciado un incremento en la competencia por fotoasimilados entre los distintos sumideros de las plantas, dando menor oportunidad a las estructuras vegetativas de acumular almidón. Además de ello, el mayor desarrollo de las hojas con la aportación hídrica a los 106 DTPF (Tabla 6; Pág 100), igualmente, pudo haber promovido la disminución en la acumulación de almidón en los tratamientos de mayor aporte de agua (T100 y T75) por un efecto de dilución o por autosombreamiento.

Contrario a lo ocurrido en 2007, en la temporada de 2008, la concentración de almidón en brotes y hojas a los 120 DTPF tendió a disminuir con la restricción hídrica al suelo, respuesta acorde con el comportamiento de la tasa de asimilación de CO₂ (Tabla 9; Pág 104).

Respecto a la concentración de carbohidratos solubles totales a nivel de hojas y frutos no se detectaron diferencias significativas entre los regímenes de humedad ensayados. Sin embargo, se han observado ciertas tendencias que merecen ser comentadas (Tabla 14).

Tabla 14. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración total de carbohidratos solubles (mg.g⁻¹MS) en hojas analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Carbohidratos solubles totales		
		Hojas		Frutos
		120 DTPF	Recolección	Invierno
T50	2006	-	-	670,52
T75		-	-	668,07
T100		-	-	647,10
T50	2007	101,05	128,32	753,97
T75		104,20	117,22	741,88
T100		104,68	123,42	738,22
T50	2008	123,46	128,35	693,99
T75		138,30	125,48	667,00
T100		125,42	129,53	663,45

En este sentido, en la Tabla 14 se aprecia que la concentración de azúcares solubles totales en los frutos tendió a disminuir con el aporte hídrico al suelo, mientras que, por el contrario, en las hojas se observó un sutil aumento de la concentración con la disponibilidad hídrica, aunque sólo a los 120 DTPF. Se observa además que la concentración de carbohidratos solubles totales en hojas ha sido distinta entre muestreos, siendo mayor para el momento de la recolección.

Independientemente del ciclo evaluado, el incremento en la concentración de almidón y de azúcares solubles totales en las hojas al momento de la recolección, en comparación al muestreo realizado a los 120 DTPF, sugiere un cese de la actividad sumidero del fruto ya maduro y un posible transporte de carbohidratos hacia otros sumideros como troncos, ramas, brotes y raíces, que han de prepararse para el reposo invernal.

La notable diferencia existente en la concentración de almidón a nivel de los frutos entre los ciclos puede ser debida a diferencias del estado de maduración en el momento de la recolección. Sin embargo, se observa claramente que en 2008 la restricción del agua de riego tendió a retrasar el grado la maduración de los frutos dado el incremento de la concentración de almidón con la restricción hídrica. Análogamente, la concentración de carbohidratos solubles manifestó el mismo incremento.

El hecho de que distintos autores hayan manifestado que los solutos se acumulan en las plantas bajo deficiencia hídrica para superar la oferta de fotoasimilados (Meyer y Boyer 1981; Van Volkenburgh y Boyer 1985), hace pensar que la mayor concentración de carbohidratos en los frutos es debida a un aumento de su capacidad como sumidero a consecuencia de la menor competencia con las estructuras vegetativas.

Al considerar la concentración los azúcares solubles por separado encontramos que los tratamientos de riego sólo afectaron significativamente ($P \leq 0,05$) la concentración de sacarosa y glucosa en hojas a los 120 DTPF y al momento de la recolección, respectivamente, incrementando éstos con el aporte hídrico. Resultado únicamente observado en 2008 (Tabla 15).

Además de la similitud estadística entre las concentraciones foliares de carbohidratos solubles, independientemente del ciclo y fecha de muestreo, los tratamientos no tendieron a afectar el orden de concentración de cada uno de los azúcares que, de mayor a menor siempre fueron el sorbitol, sacarosa, glucosa y fructosa.

En la Tabla 15, se observa que la concentración de sorbitol en las hojas tendió a incrementarse con la restricción hídrica, de forma opuesta a la sacarosa que presentó la tendencia a disminuir en la mayoría de los muestreos. El resto de los azúcares no manifestaron respuesta clara.

Tabla 15. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 120 DTPF y al momento de la recolección.

Tratamientos (ETc)	Sac*	Glu	Fruc	Sor	Sac	Glu	Fruc	Sor
	120 DTPF				Recolección			
2007								
T50	15,75	18,74	4,66	65,52	37,27	16,29	5,70	69,05
T75	17,67	16,54	4,11	65,88	29,47	18,74	5,12	63,88
T100	18,73	16,22	3,67	62,45	38,73	17,37	5,78	61,53
2008								
T50	24,09 b	10,29	3,66	85,42	40,65	9,98 b	5,54	72,20
T75	31,44 a	15,84	4,21	86,81	37,04	11,07 a	5,24	73,13
T100	27,74 ab	11,02	3,54	83,13	34,73	14,83 a	5,91	74,06

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

*Sac: Sacarosa; Glu: Glucosa; Fruc: Fructosa; Sor: Sorbitol.

DTPF: Días tras plena floración.

Es evidente que en las hojas, los únicos azúcares que incrementaron su concentración con el avance de la estación fueron la fructosa y la sacarosa. Sin embargo, es indudable que la sacarosa haya sido la responsable del incremento de la concentración total de carbohidratos solubles en hojas al momento de la recolección.

Para el resto de azúcares, aunque manifestaron cierta alteración en su concentración con la época de muestreo, su variación no fue tan acentuada.

Es de señalar que el sorbitol es el principal fotoasimilado producido en el tejido foliar por muchas de las especies de las Rosáceas, incluyendo a todos los géneros económicamente importantes, como el *Malus* al cual pertenece el manzano (Watari *et al.*, 2004). Este carbohidrato representa entre el 60 y 80% del azúcar exportado desde las hojas (Webb y Burley, 1962), de ahí las altas concentraciones detectadas a nivel foliar.

De forma similar, en fruto, los tratamientos de riego no afectaron significativamente la concentración de los azúcares individuales por separado al momento de la recolección (Tabla 16). No obstante, independientemente del año de evaluación, parece que la restricción hídrica al cultivo indujo aumentos en la concentración de los azúcares.

Tabla 16. Efecto de tres regímenes de riego sobre la concentración de azúcares solubles (mg g^{-1} MS) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Azúcares solubles			
		Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
T50	2006	168,20	103,79	373,57	24,96
T75		154,41	102,95	386,36	24,34
T100		155,16	96,16	372,21	23,58
T50	2007	172,42	148,86	417,01	15,60
T75		176,05	143,86	406,83	15,14
T100		167,81	145,72	409,40	15,30
T50	2008	189,58	84,75	394,32	25,35
T75		168,64	79,48	398,15	20,73
T100		170,56	90,78	382,52	19,58

Por otro lado, la concentración de azúcares solubles en frutos a la recolección, de mayor a menor, siempre fue: fructosa, sacarosa, glucosa y sorbitol.

Al ser el sorbitol el carbohidrato de mayor importancia en la relación fuente-sumidero, seguido de la sacarosa (Webb y Burley, 1962) se convierte en el principal fotoasimilado importado a los frutos para sostener su crecimiento y desarrollo (Loescher *et al.*, 1982; Webb y Burley, 1962). Sin embargo, una vez en el fruto es básicamente oxidado a fructosa por la sorbitol deshidrogenasa (Nosarszewski y Archbold, 2007), y de allí los bajos niveles de sorbitol en el fruto y la alta acumulación de fructosa; aunque la composición relativa de carbohidratos no estructurales en frutos de manzano varía con el cultivar (Chan *et al.*, 1972; Berüter, 1985); en 'Golden Delicious', cultivar perteneciente al mismo grupo de la 'Golden Reinders', la fructosa es el principal carbohidrato soluble, seguido de la sacarosa, glucosa y sorbitol (Pavel y Dejong, 1995).

Crecimiento de frutos, parámetros productivos y productividad del agua.

Al evaluar el crecimiento de los frutos a partir de los datos obtenidos durante el avance de las temporadas de crecimiento de 2006 y 2007, hemos observado que los datos obtenidos se han ajustado a curvas sigmoideas simples ($P \leq 0,01$), según el método matemático descrito por Blanco-Braña y Jackson (1982) (Figura 11).

En todos los casos, el estadístico r^2 , con valores entre 0,981 y 0,994, nos indica que el modelo de regresión calculado ha sido capaz de representar correctamente la variabilidad del diámetro de los frutos independientemente de la temporada evaluada. Esta bondad en el ajuste, permite comparar con fiabilidad la evolución del crecimiento de los frutos a partir de los parámetros calculados de las curvas de crecimiento expuestas en la Tabla 17.

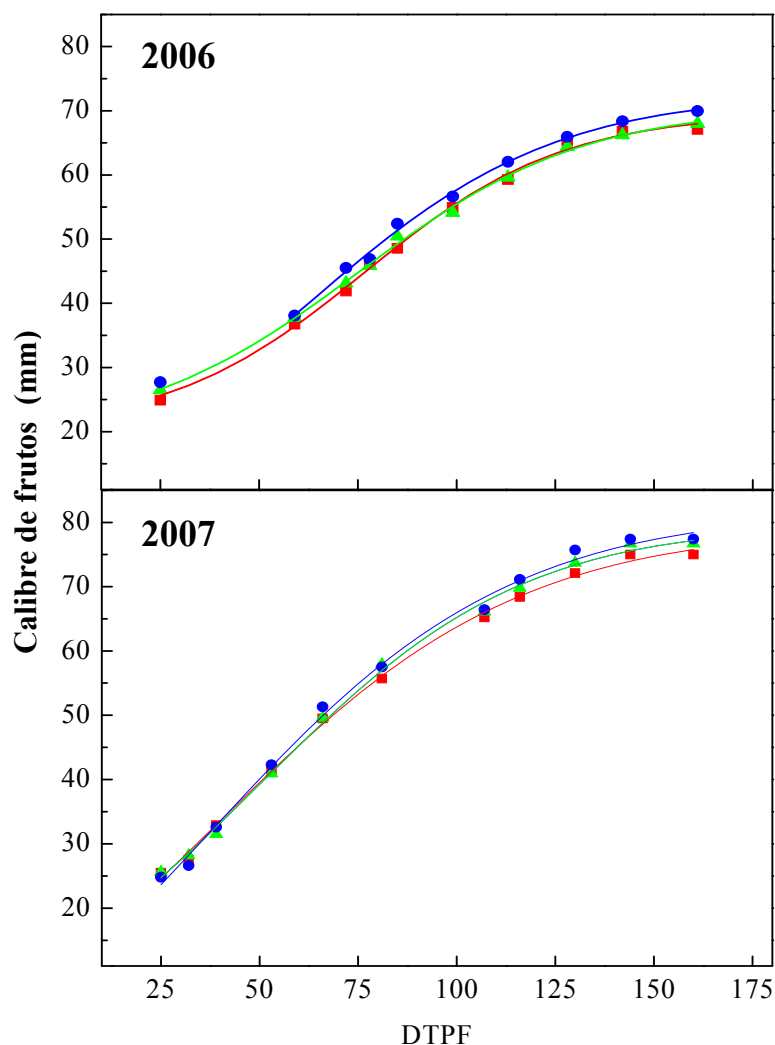


Figura 11. Evolución del calibre de frutos manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)) en 2 ciclos productivos.

Según las curvas sigmoideas obtenidas, en las primeras fases del desarrollo, la velocidad de crecimiento de los frutos es lenta y luego se incrementa hasta alcanzar un máximo, para posteriormente disminuir. En todos los casos, los frutos presentaron tasas de crecimiento similares entre sí, aunque se aprecia una leve ralentización progresiva de la velocidad de crecimiento en los tratamientos bajo restricción hídrica, con el transcurrir del tiempo.

Tabla 17. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzano 'Golden Reinders' en términos de calibre.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Ecuación	Coefficiente de determinación
T50	2006	$Y = \frac{71,7}{1 + e^{-0,03064 * (x-59,0)}}$	$r^2 = 0,981$
T75		$Y = \frac{72,9}{1 + e^{-0,02739 * (x-57,4)}}$	$r^2 = 0,992$
T100		$Y = \frac{73,6}{1 + e^{-0,02992 * (x-56,7)}}$	$r^2 = 0,988$
T50	2007	$Y = \frac{77,7}{1 + e^{-0,03009 * (x-49,9)}}$	$r^2 = 0,992$
T75		$Y = \frac{78,3}{1 + e^{-0,03087 * (x-50,2)}}$	$r^2 = 0,994$
T100		$Y = \frac{79,5}{1 + e^{-0,03197 * (x-50,5)}}$	$r^2 = 0,989$

Y: Calibre del fruto en mm.

X: Tiempo en días

El análisis de varianza de los parámetros de las ecuaciones establecidas demuestra que no existieron diferencias significativas en el calibre final de los frutos (C), aunque los valores decrecieron con el incremento de la severidad del estrés hídrico (Tabla 18).

Al igual que en el máximo calibre de fruto (C), los tratamientos aplicados durante las temporadas de 2006 y de 2007 no produjeron diferencias significativas respecto a la máxima tasa de crecimiento de los frutos (M), ni a la máxima razón de crecimiento (m). En promedio, 'M' se presentó a los 58 y 50 días, mientras que 'm' fue de 0,53 y 0,64 mm día⁻¹, para las temporadas de 2006 y 2007, respectivamente (Tabla 18).

Tabla 18. Máximo calibre de frutos (C), fecha de máximo crecimiento (M) y máxima razón de crecimiento (m) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos durante los ciclos productivos de 2006 y de 2007.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Parámetros de crecimiento		
		C (mm)	M (DTPF)	m (mm día ⁻¹)
T50	2006	71,7	59,0	0,55
T75		72,9	57,4	0,50
T100		73,6	56,7	0,55
T50	2007	77,7	49,9	0,61
T75		78,3	50,2	0,64
T100		79,5	50,5	0,66

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración

Diferentes trabajos han puesto de manifiesto la importancia de la disponibilidad del agua para el crecimiento de fruto. Así, Mills *et al.* (1997) han indicado que el crecimiento de los frutos, en manzano, se ve afectado negativamente cuando los árboles son sometidos a menor suministro hídrico, especialmente si la deficiencia hídrica se presenta durante la fase de expansión celular (Mpelasoka *et al.*, 2001a).

De estas publicaciones se puede concluir que el manzano es un cultivo que es poco resistente al déficit hídrico y la falta de agua causa efectos irreversibles sobre el crecimiento de los frutos. Sin embargo, nuestros resultados ponen en evidencia, especialmente en el caso de la producción comercial y bajo las condiciones de estudio, que es posible llegar a resultados efectivos con una adecuada administración del riego deficitario.

En recolección, los parámetros productivos igualmente se vieron poco condicionados por los tratamientos deficitarios de humedad impuestos al cultivo (Tabla 19). Así, ni el número total de frutos producidos por árbol ni en la carga de cosecha manifestaron diferencias significativas que pudiesen ser atribuidas a los tratamientos aplicados. No obstante, es necesario recordar que la carga de cosecha fue ajustada inicialmente a través de un aclareo, a excepción del ciclo de 2008 que se caracterizó por presentar una marcada vecería.

Los distintos regímenes de riego ensayados sólo afectaron significativamente ($P \leq 0,05$) el rendimiento expresado en términos de producción y de peso promedio de los frutos en la temporada de 2009, en la que se observó que el tratamiento T100 superó significativamente al T75 y éste, a su vez, al tratamiento T50 (Tabla 19).

La productividad de los árboles (g cm^{-2} STAT), aunque tendió a ser mayor con el aporte hídrico (Tabla 19), sólo manifestó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en las temporadas de 2007 y de 2009, al incrementarse con el suministro hídrico.

La menor producción de los árboles bajo deficiencia hídrica en la temporada de 2009 la hemos atribuido a la alta carga de cosecha de los árboles, lo que a su vez condujo a una producción extremadamente elevada. La alta cantidad de frutos dejados por árbol, tras el aclareo en la temporada de 2009, en comparación al resto de las estaciones evaluadas, es aparentemente la razón que explica la influencia de los tratamientos de irrigación sobre la producción de los árboles. Al respecto, es razonable pensar que el tejido fotosintético de los árboles sometidos a deficiencia hídrica durante esta temporada fue incapaz de sintetizar suficientes fotoasimilados como para abastecer a la mayor cantidad de frutos dejada por árbol, acentuándose la competencia entre ellos. Adicionalmente, en dicha temporada (2009), hemos observado que la conductancia estomática pareció imponer cierto control sobre la fotosíntesis como mecanismo de defensa ante la desecación, lo que pudo a su vez acentuar las diferencias de peso entre los frutos. En este contexto, Mpelasoka *et al.* (2001a) han manifestado que el tamaño de los frutos se ve afectado por la interacciones entre el riego y la carga del árbol debido principalmente a efecto de las de las relaciones hídricas sobre la fotosíntesis.

Tabla 19. Efecto de diferentes regimenes de riego sobre la recolección en árboles de manzano “Golden Reinders”, en 4 ciclos productivos (2006-2009).

Tratamientos (ETc)	Nº Frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Humedad fruto (%)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
2006						
T50	204	27,9	137,9	80,4	270,8	2,0
T75	232	33,3	145,2	80,4	312,6	2,2
T100	187	29,5	158,5	78,6	292,6	1,9
2007						
T50	162	28,4	176,3	79,2	1175,9 b	6,76
T75	160	29,6	189,3	81,7	1299,4 ab	6,99
T100	179	33,5	188,6	80,0	1419,4 a	7,54
2008						
T50	65	12,4	189,1	81,9	511,8	2,7
T75	63	12,4	201,2	81,6	562,3	2,8
T100	68	12,8	193,0	83,1	537,2	2,9
2009						
T50	276	37,0 c	136,3 c	84,1	1191,3 b	8,8
T75	255	44,6 b	177,8 b	84,5	1399,3 ab	8,0
T100	256	49,7 a	196,6 a	85,9	1506,3 a	7,8

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Es interesante comentar que, si bien la productividad en los ciclos de 2007 y 2009 estuvo afectada por los tratamientos de irrigación, el T75 no difirió significativamente del T100, resultado que nos confirma que reducir la aportación de agua al árbol hasta un 25 de sus requerimientos máximos podría permitir ahorrar cantidades considerables de agua.

Uno de los objetivos básicos cuando el agua es escasa, es generar la mayor riqueza posible por cada litro de agua empleado, quizás por ello, el valor práctico más importante del uso de la estrategia del riego deficitario en las condiciones de este trabajo se vea reflejado en la información expuesta en la Tabla 20.

Tabla 20. Agua aportada y su productividad (*WP*) en manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes de riego en 4 ciclos productivos (2004-2009).

	Ciclo	Tratamientos de irrigación (ETc)		
		T50	T75	T100
Agua aportada (L árbol ⁻¹)	2006	1254,80 c	1882,20 b	2509,60 a
WP (g fruto L agua ⁻¹)		25,9 a	20,3 b	13,5 c
Agua aportada (L árbol ⁻¹)	2007	1094,6 c	1641,9 b	2189,2 a
WP (g fruto L agua ⁻¹)		25,9 a	16,9 b	15,3 b
Agua aportada (L árbol ⁻¹)	2008	1363,5 c	2045,3 b	2727,0 a
WP (g fruto L agua ⁻¹)		9,06 a	6,07 b	4,68 b
Agua aportada (L árbol ⁻¹)	2009	1699,3	2548,9 b	3398,5 a
WP (g fruto L agua ⁻¹)		21,8 a	17,5 b	14,6 c

En la misma fila, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Estos resultados han demostrado que la productividad del agua siempre fue significativamente mayor ($P \leq 0,05$) con la reducción del suministro hídrico al suelo (Tabla 20). El T75, en comparación al tratamiento control (T100) produjo, por litro de agua aportada, aproximadamente un 50, 10, 30 y 20 % más de masa fresca de fruto en los años 2006, 2007, 2008 y 2009, respectivamente. La diferencia fue más acentuada al comparar el tratamiento control con el T50.

En la actualidad, se han desarrollado técnicas como el DPR y el RDC que han revelado ser eficientes para incrementar la eficiencia en el uso del agua. Así, estas

técnicas han permitido reducir significativamente el uso del agua sin afectar considerablemente los rendimientos en especies cultivadas como: melocotoneros (Mitchell y Chalmers, 1982; Li *et al.*, 1989; Boland *et al.*, 1993), perales (Mitchell *et al.*, 1989; Caspari *et al.*, 1994; Marsal *et al.*, 2002), olivares (Alegre *et al.*, 1997), mangueros (*Mangifera indica* L.) (Pavel y Villiers 2004; Spreer *et al.*, 2009) y manzanos (Mpelasoka *et al.*, 2001b; Zegbe-Domínguez *et al.*, 2006; Leib *et al.*, 2006; Antonelli *et al.*, 2008).

Los resultados derivados de este estudio han mostrado que los tratamientos de déficit hídrico han ocasionado leve influencia sobre los parámetros productivos en comparación a los árboles adecuadamente regados. Tal respuesta, se traduce, desde el punto de vista de eficiencia productiva, en un ahorro potencial del agua de entre un 25 y 50 %. Sólo en la temporada de 2007 y 2009 la productividad de los árboles dependió del aporte hídrico, aunque estadísticamente reducir el aporte hídrico en un 25 % permite que la productividad de los árboles no difiera del tratamiento control.

Calidad de fruto

En todas las campañas evaluadas, el calibre promedio de los frutos en recolección presentó un efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos al incrementarse con el aporte hídrico al suelo (Tabla 21). Únicamente, en la temporada 2006 no se obtuvieron diferencias significativas entre los calibres, aunque los frutos de los árboles regados bajo T100, tendieron a manifestar mayor tamaño.

Tabla 21. Calibre promedio de frutos (mm) a la recolección, obtenidos de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a diferentes regímenes hídricos.

Tratamientos (%ETc)	Ciclos productivos			
	2006	2007	2008	2009
T50	66,78	72,14 b	72,96 b	70,77 b
T75	66,22	73,70 b	75,95 a	71,92 ab
T100	68,37	75,68 a	77,51 a	72,40 a

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

El análisis en conjunto de la producción en términos de la distribución porcentual de frutos, de acuerdo a la categoría de calibre utilizada en la comercialización de las manzanas, pone en evidencia que los tratamientos de riego deficitario, y principalmente la restricción del 50 % del requerimiento hídrico, afecta significativamente ($P \leq 0,05$) el número de frutos comerciales (calibre > 70 mm), al reducir su cantidad respecto a los frutos totales del árbol (Tabla 22). Para los años 2007 y 2008, los árboles regados al 75 % del requerimiento hídrico alcanzaron una proporción de frutos de calibre superior a 70 mm que no difirió significativamente de los árboles considerados como control (T100).

Tabla 22. Efecto del régimen hídrico sobre la distribución porcentual de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' según su categoría comercial.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Distribución de los frutos (%) de acuerdo al estándar comercial (Calibre)		
		< 60 mm	60 -70 mm	> 70 mm
T50	2006	14,5 a	47,5	38,2 b
T75		6,2 b	57,7	36,2 b
T100		1,9 b	51,3	47,2 a
T50	2007	1,3	25,5 a	73,2 b
T75		0,7	14,5 b	84,8 a
T100		0,3	10,4 b	89,3 a
T50	2008	3,0 a	28,0 a	69,0 b
T75		0,8 b	9,2 b	90,0 a
T100		0,1 b	5,8 b	94,1 a
T50	2009	2,5 a	49,2 a	48,3 c
T75		0,8 b	36,7 b	62,5 b
T100		2,5 a	23,3 c	74,2 a

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Aunque esperábamos impactos de mayor trascendencia, en cuanto al efecto de los tratamientos deficitarios de humedad sobre el tamaño final de los frutos, hemos corroborado que la deficiencia hídrica reduce el tamaño final de los frutos quizás como consecuencia del posible efecto del estrés hídrico sobre la turgencia de las células del fruto (Hsiao, 1973) ya que las ligeras disminuciones en la capacidad

fotosintética de los árboles durante los primeros 3 años de estudio nos indica que el nivel de estrés que pudo haber ocasionado los tratamientos deficitarios no fue lo suficientemente alto para causar limitaciones en la relación fuente sumidero.

La ausencia de diferencias significativas en la cantidad de frutos con calibre superior a 70 mm, entre los tratamientos T75 y T100, para las temporadas de 2007 y de 2008, revela que es posible reducir el suministro hídrico a los árboles sin que se afecte el estándar comercial de los frutos. Sin embargo, la influencia negativa de la restricción hídrica del 25 %, al disminuir la proporción de frutos de categoría comercial (> 70 mm) en 2009, indica que debe considerarse la cantidad de frutos en función al tamaño de los árboles ya que muy posiblemente la alta carga de cosecha dejada en estos árboles (Tabla 19; Pág. 121) pudo incrementar la sensibilidad de los frutos a la deficiencia hídrica, aunque los descensos en la capacidad fotosintética observados en 2009 a lo largo del crecimiento vegetativo pudo igualmente limitar la cantidad de carbono destinada a cada fruto. Por tanto, manejando un número adecuado de frutos, en función al tamaño de los árboles, es posible reducir los requerimientos hídricos de manzano 'Golden Reinders' bajo las condiciones del valle del Ebro, en un 25 %, sin que ello conlleve una importante reducción de su tamaño.

En la Tabla 23 se destaca la importancia de riego deficitario sobre algunos parámetros de calidad de los frutos. Como observamos, la deficiencia hídrica mantenida desde plena floración hasta la recolección incrementó significativamente ($P \leq 0,05$) el contenido en SST, independientemente de la parte del fruto expuesta al sol. Igualmente, la firmeza de los frutos tendió a ser mayor a medida en que los árboles recibieron menor cantidad de agua; sin embargo, ésta variable sólo manifestó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en las temporadas de 2008 y 2009, en ambas caras de los frutos, y en la cara expuesta al sol en el ciclo de 2007.

En contraste a los SST, la restricción lineal del riego sobre la acidez valorable de la pulpa y sobre el índice de almidón, no causó diferencias significativas independientemente del año evaluado (Tabla 23), aunque el aporte hídrico indujo cierta tendencia a la disminución en el contenido de almidón (valor más alto del índice), lo que sugiere un ligero adelanto de la maduración de los frutos.

Por su parte, el índice Thiault se incrementó con la restricción de humedad, aunque sólo se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en las temporadas de 2006 y 2009 (Tabla 23).

En estudios previos se ha puesto de manifiesto que los frutos del manzano presentan mayores valores de SST en respuesta al déficit hídrico (Irvin y Drost, 1987; Ebel *et al.*, 1993; Caspari *et al.*, 2006). Al respecto, se ha sugerido que el ajuste osmótico inducido por la sequía puede contribuir a tales incrementos (Ebel *et al.*, 1993). Sin embargo, Kramer (1983) y Mpelasoka *et al.* (2001b) han descrito que el aumento en SST en frutos desarrollados bajo deficiencia hídrica es consecuencia del mayor desdoblamiento de los carbohidratos de reserva en azúcares más simples.

De acuerdo a lo expuesto por Leib *et al.* (2006), en nuestro estudio no hemos encontrado efecto significativo del riego deficitario sobre el índice de almidón de los frutos, lo que sugiere que la maduración de las manzanas no es influenciada por los tratamientos de humedad, tal como ha señalado Talluto *et al.* (2008). Por tanto, y como la acumulación activa de solutos es una característica que presentan los árboles de manzano en respuesta a las condiciones de sequía (Davies y Lakso, 1979), es posible que el incremento en los SST detectado en este trabajo haya sido por algún efecto metabólico (ajuste osmótico) experimentado por los frutos.

En cuanto a la firmeza, se ha demostrado que es un atributo de calidad influenciado por el tamaño del fruto o la acumulación de materia seca (Mpelasoka *et al.*, 2001b; Leib *et al.*, 2006).

Los frutos más pequeños tienden a ser, generalmente, más firmes debido a la mayor densidad celular (Ebel *et al.*, 1993; Volz *et al.*, 2003). Por lo tanto, teóricamente, los tratamientos que hacen decrecer el tamaño de los frutos tenderían a incrementar la firmeza de los mismos (Behboudian y Mills, 1997).

Al ajustar los datos de firmeza, tanto de la cara expuesta al sol como los de la cara no expuesta, al calibre de los frutos a través de análisis de covarianza, se obtuvo que los tratamientos hídricos no afectaron significativamente este parámetro, resultados similares a los obtenidos por Ebel *et al.* (1993) y Mpelasoka *et al.* (2000).

Tabla 23. Efecto de diferentes regímenes de riego sobre variables de calidad de frutos de manzano 'Golden Reinders', en la recolección durante 4 ciclos productivos (2006 - 2009).

Tratamientos (ETc)	SST (° Brix) Sombreada	SST (°Brix) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice de almidón	Índice Thiault
2006							
T50	15,3 a	15,3 a	53,0	56,7	4,8	7,7	210,3 a
T75	14,1 b	14,2 b	54,9	54,1	4,9	7,9	199,6 b
T100	14,1 b	14,1 b	54,6	54,5	4,8	8,2	197,2 b
2007							
T50	12,3 a	12,9 a	37,2	42,9 a	3,3	9,9	166,7
T75	11,9 ab	12,2 ab	38,4	41,1 ab	3,6	10,0	163,9
T100	10,7 b	11,2 b	35,7	36,5 b	3,5	10,0	151,6
2008							
T50	15,2 a	15,4 a	72,3 a	72,5 a	5,0	7,1	212,4
T75	15,1 a	15,1 a	67,5 b	70,7 a	5,1	7,6	210,7
T100	14,1 b	14,0 b	66,0 b	66,3 b	4,7	7,8	195,5
2009							
T50	13,1 a	13,6 a	60,9 a	63,0 a	3,4	9,1	175,5 a
T75	12,8 a	13,4 a	58,8 b	60,4 b	3,3	9,2	171,3 a
T100	12,2 b	12,7 b	56,7 b	60,5 b	3,1	9,7	163,2 b

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Por lo tanto, se puede considerar que el efecto del déficit hídrico sobre la resistencia a la penetración de los frutos es un efecto indirecto debido a la reducción del tamaño del fruto.

Dado que el calcio juega cierto papel en las funciones estructurales por su implicación en la funcionalidad de las membranas celulares y en la rigidez de las paredes celulares (Bonilla, 2000), podría considerarse, tal como aseguran Buccheri y Di Vaio (2004), que este nutriente pudo haber afectado la firmeza de los frutos. Sin embargo, según los resultados obtenidos, la concentración de calcio en la pulpa de los frutos en la recolección no manifestó la influencia de los tratamientos de irrigación (Tabla 26, Pág. 136).

Algunos trabajos han revelado reducciones de la acidez valorable en respuesta al déficit hídrico (Proebsting *et al.*, 1984), mientras que otras, están en concordancia con los resultados obtenidos en este ensayo, es decir, no han mostrado efecto de la restricción del riego sobre la acidez de los frutos (Irving y Drost, 1987; Kilili *et al.*, 1996b; Mpelasoka *et al.*, 2000).

Al estudiar la cromaticidad de los frutos hemos observado que el color de la piel de las manzanas ha sufrido cambios inconsistentes como consecuencia de la aplicación de niveles reducidos de humedad. Así, sólo la cara no expuesta al sol de los frutos provenientes del tratamiento T50, en la temporada de 2007, presentaron significativamente ($P \leq 0,05$) mayor Luminosidad (L^*), en comparación a los tratamientos T75 y T100, que no difirieron significativamente entre sí (Tabla 24).

Para los valores de cromaticidad a^* , los resultados indican sólo diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para la temporada de 2007, al ser las manzanas provenientes del T50 menos verdosas (mayores valores de a^*) en comparación a coloración de la piel de los frutos del resto de los tratamientos (T75 y T100), que a su vez no manifestaron diferencias significativas entre ellos (Tabla 24). En el ciclo de 2008, sólo la cara sombreada de los frutos de los árboles regados al 100 y 75 % de sus requerimientos resultaron tener estadísticamente igual coloración de verde, en

contraste con lo obtenido en 2007, en que los valores de a^* han sido significativamente ($P \leq 0,05$) superiores a los obtenidos para T50.

El parámetro b^* , en recolección, manifestó diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la temporada de 2007, al presentar la cara no expuesta al sol de los frutos del T50 mayor coloración de amarillo en comparación a las manzanas obtenidas bajo la influencia del resto de los tratamientos, que resultaron no se significativamente distintos entre sí. Similar a esto, en la campaña de 2008, la medida del amarillo en la cara sombreada de los frutos de los árboles mejor regados (T100) resultó ser significativamente ($P \leq 0,05$) inferior al resto de los tratamientos (Tabla 24). Para el resto de los valores obtenidos e independientemente de la exposición al sol de las manzanas y de la temporada estudiada, los tratamientos de irrigación no manifestaron influencia significativa sobre el parámetro de cromaticidad b^* .

Los análisis estadísticos para el contraste (C^*) no detectaron efecto significativo de los tratamientos. Sólo la cara sombreada de los frutos regados al 100 % resultó ser significativamente ($P \leq 0,05$) menor en comparación al resto de los tratamientos que fueron estadísticamente similares.

Para el tono (H) los resultados manifestaron respuesta similar a la obtenida para el parámetro b^* (Tabla 24).

Los resultados obtenidos para la cromaticidad de los frutos son coincidentes con los obtenidos en variedades de manzana de coloración roja como Gala, Fuji y Pink Lady (Anconelli *et al.*, 2008; Talluto *et al.*, 2008; O'Connell y Goodwin, 2007), Braeburn (Mpelasoka *et al.*, 2001b) y de coloración amarillenta como 'Golden Delicious' (Proebsting *et al.*, 1984), donde se ha descrito que el color de los frutos presentó modificaciones intrascendentes a consecuencia de la restricción hídrica.

Por el contrario, en especies frutales como el manguero (Spreer *et al.*, 2007) y albaricoquero (*Purnus armeniaca* L.) (Torrecillas *et al.*, 2000) el déficit hídrico indujo diferencias significativas en la coloración de la piel de los frutos, aunque en este último caso obtuvieron mayor intensidad de color sólo en los frutos procedentes de tratamientos bajo déficit de riego severo.

Tabla 24. Efecto de diferentes regímenes de riego sobre la cromaticidad de frutos de manzano 'Golden Reinders', en la recolección durante 4 ciclos productivos (2006 – 2009).

Tratamientos (ETc)	Luminosidad (L*)		Coord. Cromaticidad (a*)				Tono (C*)		Ángulo de Matiz (H°)	
	Sombreada	Soleada	Sombreada	Soleada	Sombreada	Soleada	Sombreada	Soleada	Sombreada	Soleada
2006										
T50	74,4	75,3	-20,4	-17,5	46,2	48,0	50,5	51,3	113,9	110,1
T75	74,4	75,4	-20,3	-17,5	46,3	47,9	50,6	51,2	113,7	110,1
T100	74,4	75,5	-20,3	-17,3	46,3	48,1	50,6	51,3	113,8	109,9
2007										
T50	77,1 a	75,9	-13,4 b	-6,6 b	45,6 a	45,7	47,6	46,8	106,4 b	97,8 b
T75	76,1 b	76,8	-14,3 a	-9,4 a	44,8 b	46,3	47,1	47,5	107,8 a	101,5 a
T100	75,7 b	76,0	-14,9 a	-10,6 a	44,6 b	45,3	47,1	46,9	108,5 a	103,2 a
2008										
T50	74,3	76,1	-14,8 a	-11,4	43,8 b	42,7	46,3 a	44,3	108,7 a	104,8
T75	74,0	76,6	-13,7 b	-11,3	44,4 a	43,2	46,6 a	44,7	107,2 b	104,6
T100	74,8	76,0	-13,0 b	-11,0	43,1 c	42,7	45,2 b	44,3	106,8 b	104,6
2009										
T50	73,35	73,87	-11,08	-12,61	44,07	44,24	45,74	46,14	103,97	105,85
T75	74,17	73,81	-10,61	-12,16	44,78	43,69	46,34	45,52	103,12	105,57
T100	74,37	73,40	-10,06	-11,46	43,21	43,37	44,69	45,19	102,97	104,67

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

En la Figura 12 observamos la evolución de la incidencia de bitter pit ajustada a líneas de tendencia logarítmicas en función al tiempo de almacenamiento.

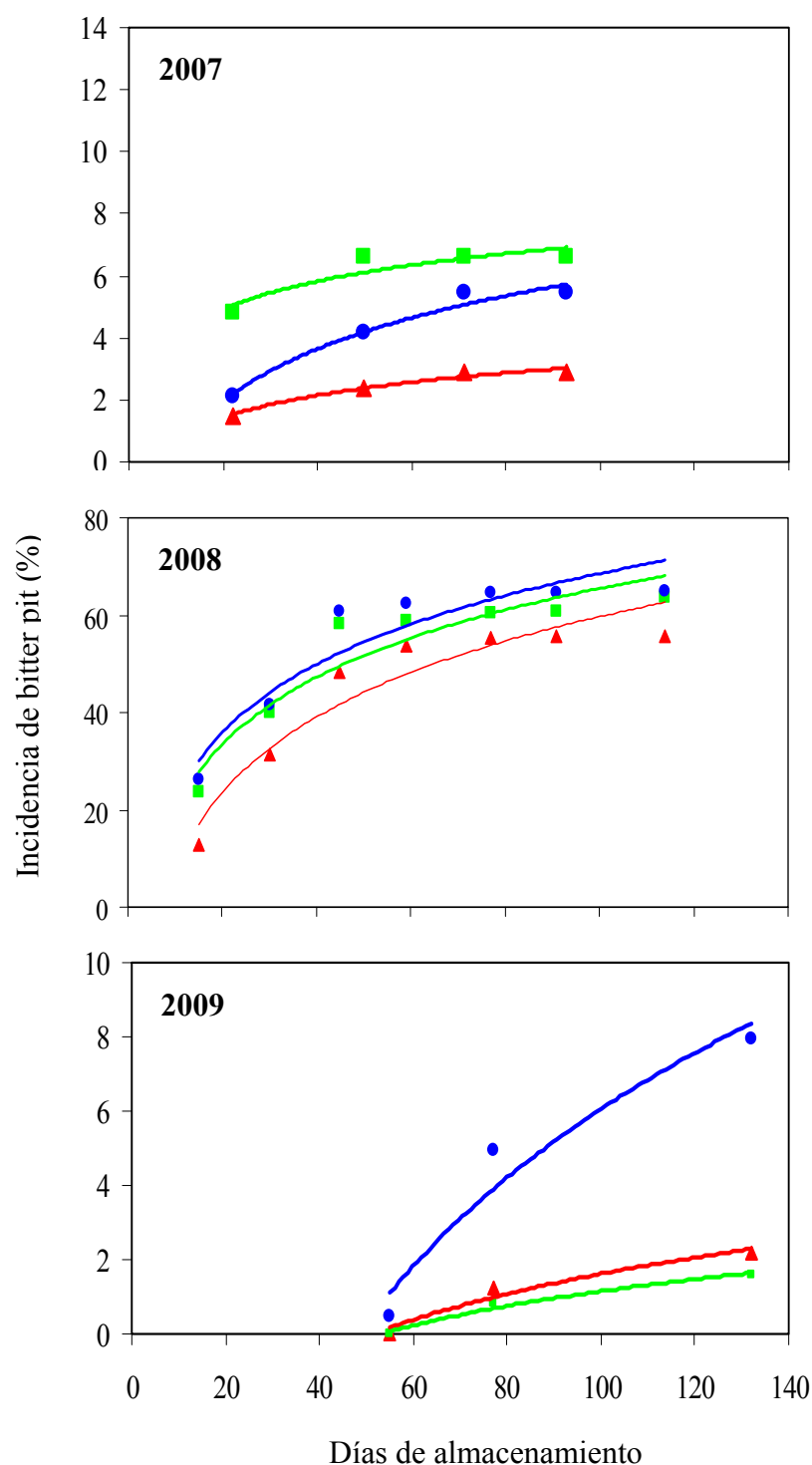


Figura 12. Evolución postcosecha de la incidencia de bitter pit en frutos manzano 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos (T100 (●), T75 (■) y T50 (▲)).

En promedio, el coeficiente de determinación (r^2) obtenido para los análisis de regresión de las curvas presentadas en la Figura 12 ha sido de 0,930 y, en todos los casos, los análisis de bondad de ajuste resultaron ser estadísticamente significativos (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$) (Tabla 25).

La incidencia de bitter pit aunque se incrementó en todos los casos con el tiempo de almacenamiento, los tratamientos de riego a largo de la estación de crecimiento indujeron menor ocurrencia de la fisiopatía durante el almacenamiento (Figura 12). Estos resultados concuerdan con los de Failla *et al.* (1990), Irving y Drost (1987) y Lötter *et al.* (1985) quienes manifestaron que los frutos del manzano sometidos a un menor suministro hídrico presentan menor incidencia de esta fisiopatía.

Tabla 25. Ecuaciones de predicción de la incidencia de bitter pit en manzanos 'Golden Reinders' bajo 3 regímenes hídricos, en cámara convencional.

Tratamientos (ETc)	Ciclo	Ecuación	Coeficiente de determinación
T50		$Y(T50) = 1,0404\ln(x) - 1,6874$	$r^2 = 0,969^{**}$
T75	2007	$Y(T75) = 1,2808\ln(x) + 1,1003$	$r^2 = 0,835^{**}$
T100		$Y(T100) = 2,467\ln(x) - 5,4542$	$r^2 = 0,969^{**}$
T50		$Y(T50) = 22,478\ln(x) - 43,815$	$r^2 = 0,909^*$
T75	2008	$Y(T75) = 19,931\ln(x) - 26,28$	$r^2 = 0,897^*$
T100		$Y(T100) = 20,338\ln(x) - 25,109$	$r^2 = 0,885^*$
T50		$Y(T50) = 3,087\ln(x) - 11,613$	$r^2 = 0,965^{**}$
T75	2009	$Y(T75) = 2,2679\ln(x) - 8,571$	$r^2 = 0,987^{**}$
T100		$Y(T100) = 10,584\ln(x) - 3*,302$	$r^2 = 0,957^{**}$

Y: incidencia de bitter pit.

x: Tiempo en días tras el almacenamiento.

Existe información contradictoria acerca de la influencia de la restricción hídrica a las plantas de manzano y su efecto sobre la incidencia del bitter pit posterior a un período de almacenamiento. Estas diferencias, probablemente sean debidas al momento de aplicación del estrés hídrico y/o al modo de transporte del calcio en el árbol, tal y como señalan Behboudian y Mills (1997). Sin embargo, los efectos beneficiosos de la restricción hídrica sobre la incidencia de bitter pit, conseguidos por Irving y Drost (1987), fueron observados sólo cuando se impusieron los tratamientos a lo largo del período de división celular del fruto, pero no durante la fase de elongación celular. Por otra parte, Failla *et al.* (1990) han manifestado una reducción en la incidencia de bitter pit, independientemente de la fase del crecimiento del fruto en que se aplicase el déficit hídrico y del grado del estrés impuesto.

La incidencia de esta fisiopatía en manzanas está asociada con el bajo suministro de calcio al fruto durante su crecimiento (Johnson *et al.*, 1987), aporte que depende de un complejo sistema de regulación donde interviene la absorción, transporte, distribución y procesos de utilización del elemento (Himelrick y Mc Duffie, 1983).

Es importante considerar que el calcio es poco móvil y tiende a acumularse en los órganos más viejos de la planta, mientras que los de mayor actividad metabólica (hojas en crecimiento, flores, frutos y meristemos apicales) son los tejidos que necesitan un mayor aporte (Chiu y Bould, 1977).

Por otra parte, tras alcanzar la superficie radical, este nutriente es movilizado principalmente por la corriente de transpiración a través del xilema (Vang- Petersen, 1980). En tal sentido, la reducción de la transpiración por parte de la planta controlaría su distribución debido a la baja movilidad a través del floema (Hill, 1980). Igualmente, se ha señalado que el crecimiento vegetativo compite fuertemente por la distribución de calcio en comparación a los órganos reproductivos (Palzkill *et al.*, 1976; Greene y Lord, 1983; Greene, 1991) por lo que elevadas tasas de crecimiento de los órganos vegetativos, y la baja capacidad de transpiración de los frutos incrementan el riesgo de que la concentración de calcio se sitúe por debajo del nivel crítico para la integridad de la membrana, induciendo desórdenes metabólicos como el bitter pit en manzanas (Monge *et al.*, 1994).

Ninguna de estas aseveraciones sustenta los resultados obtenidos ya que la deficiencia hídrica, a pesar de que causó disminución de algunas variables vegetativas de las plantas, como ya ha sido discutido previamente, el fruto no fue preferencialmente suplido con calcio (Tabla 26, Pág. 136). En este contexto, Terblanche *et al.* (1980) no pudo encontrar relación entre la concentración de Ca en el fruto de manzano y el crecimiento de los brotes terminales en términos de longitud. Por otro lado, varios autores han informado de una pobre correlación entre la transpiración y la absorción de Ca, es decir, las variaciones en el transporte de agua no están en consonancia con las variaciones en el transporte de Ca (Armstrong y Kirkby, 1979; Atkinson *et al.*, 1992; Mulholland *et al.*, 2000).

Se ha mencionado, además, que el umbral de calcio en la recolección en la pulpa de frutos de manzano del cultivar 'Cox's Orange Pippin' a la cual no debería desarrollarse la bitter pit es de 5,4 a 6,0 mg 100 g⁻¹ de peso fresco (Johnson *et al.*, 1987). Valores inferiores a este rango fueron obtenidos independientemente del tratamiento aplicado, lo cual puede justificar la presencia de la fisiopatía posterior al período de almacenamiento. Sin embargo, los resultados referentes a la incidencia de la bitter pit en este estudio pudiesen igualmente estar relacionados con el efecto del déficit hídrico sobre el diámetro final de los frutos ya que se señala que los frutos de mayor diámetro presentan células de mayor tamaño, lo que induce a menor concentración relativa de calcio en comparación a los frutos pequeños (Monge *et al.*, 1994); por ello, los frutos de menores dimensiones presentan menor incidencia de la bitter pit (Chiu y Bould, 1977).

Los resultados de este trabajo indican que la utilización de la estrategia de riego deficitario puede constituir una esperanzadora alternativa para reducir los aportes hídricos al cultivo de manzanos 'Golden Reinders' establecido bajo las condiciones edafoclimáticas del valle del Ebro, la posibilidad de mejorar algunos atributos organolépticos de los frutos y disminuir las pérdidas postcosecha a causa de la incidencia de fisiopatías. Sólo el calibre de los frutos puede estar seriamente comprometido. Sin embargo, la reducción del 25 % de las necesidades hídricas durante toda la estación de crecimiento de cultivo permite obtener una alta proporción de frutos de buen calibre comercial, aunque es necesario estudiar profundamente su interacción con la carga del árbol.

Concentración de elementos minerales en frutos y hojas.

En la Tabla 26 están presentadas las concentraciones de Ca, K y Mg a nivel de piel y de pulpa de frutos de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a tres regímenes hídricos a lo largo de la estación de crecimiento. Al respecto, los análisis estadísticos realizados para cada fecha de muestreo sólo revelaron efecto significativo de los tratamientos sobre la concentración de K en piel, donde la concentración resultó ser significativamente superior para los tratamientos de mayor restricción hídrica.

A pesar de que prácticamente no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos, hemos observado ciertas tendencias que merecen ser comentadas. En este sentido, la concentración de Ca en pulpa de frutos, al igual que el resto de los elementos minerales evaluados (K y Mg), tendió a decrecer conforme avanzó la estación de crecimiento e independientemente de los tratamientos aplicados (Tabla 26). Este decrecimiento posiblemente se deba a un proceso de dilución progresiva como consecuencia del rápido crecimiento de la masa fresca del fruto, una vez finalizado el período de división celular. Al respecto, Westwood (1982) señala que la concentración de nutrientes en el fruto disminuye con el tiempo debido a que su velocidad de crecimiento se incrementa considerablemente en comparación a la acumulación de minerales.

Es importante considerar que, en términos absolutos, la entrada de elementos minerales al fruto no se interrumpe en su totalidad durante su desarrollo, ya que existe una continua migración de nutrientes a medida que el fruto acumula materia seca (Haynes y Goh, 1980). El patrón de distribución de los cationes evaluados (Ca, Mg y K) fue similar al obtenido por Ferguson y Watkins (1983) para frutos de manzano del cultivar 'Cox's Orange Pippin', donde la mayor concentración de los elementos fue conseguida para la piel, observándose una disminución considerable al adentrarse en la pulpa. En este sentido, Mix y Marschner (1976) señalan que la variabilidad en las concentraciones de Ca en diferentes partes del fruto no es consecuencia de modificaciones en la tasa de importación de Ca, sino que se debe a las variaciones en la tasa de crecimiento de las distintas partes del fruto.

Tabla 26. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la sobre la concentración (mg 100 g⁻¹ MF) de Ca, Mg y K en pulpa y piel de frutos de manzanos 'Golden Reinders', en dos fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).

Tratamientos (ETc)	Piel				Pulpa			
	Ca	K	Mg	K/Ca	Ca	K	Mg	K/Ca
DTPF								
78								
2006	T50	11,72	255,14ab	29,01	21,79	3,52	104,86	5,79
	T75	11,61	276,17 a	30,82	23,79	3,97	113,78	6,06
	T100	10,41	234,24 b	27,17	22,55	4,29	103,73	5,63
	161 (Recolección)							
	T50	10,96	203,44	32,99	18,69	1,86	87,79	3,43
	T75	10,69	200,03	35,31	18,70	1,43	92,33	2,64
	T100	9,63	205,41	36,76	21,57	1,65	95,42	3,57
	107							
	T50	24,86	160,60	37,48	6,45	4,33	70,34	4,57
2007	T75	24,73	151,40	38,14	6,11	3,90	68,20	4,32
	T100	23,55	161,45	39,34	6,86	4,05	71,16	4,52
	146 (Recolección)							
	T50	18,99	171,40	40,58	9,11	3,19	69,86	4,30
	T75	20,02	160,19	42,27	8,03	2,58	71,57	4,21
	T100	19,35	166,17	43,55	8,64	2,79	75,36	4,49
	75							
	T50	13,15	146,17	22,02	11,23	2,50	68,65	3,96
	T75	13,21	148,59	20,66	11,38	2,58	69,26	4,32
2008	T100	13,31	153,94	21,80	11,75	2,50	71,23	3,92
	164 (Recolección)							
	T50	5,68	125,36	30,09	22,32	1,57	60,81	2,95
	T75	5,19	122,73	27,95	23,64	1,50	65,99	3,20
	T100	7,87	128,84	26,40	17,54	1,30	65,45	3,36

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración.

Cline y Hanson (1972) han manifestado que los frutos de árboles de manzano expuestos a altos niveles de humedad presentaron menor concentración de calcio en comparación a los tratamientos de baja humedad, al igual que Failla *et al.* (1992) quienes obtuvieron incrementos en la concentración de K, Ca y Mg, con la imposición de déficits hídricos. Por el contrario, Tromp y Oele (1972) no encontraron efecto de la restricción hídrica sobre la acumulación de calcio en frutos, posiblemente debido a un incremento simultáneo de la competencia por agua vía xilema entre las hojas y los frutos. Igualmente, Irving y Drost (1987) describieron que los niveles de N, P, K Mg y Ca, en frutos de manzanos 'Cox's Orange Pippin' no manifestaron la influencia de la restricción hídrica.

A pesar de que el efecto diferencial de los tratamientos sobre la relación K/Ca fue prácticamente nulo, se observó una tendencia clara a incrementarse con la adición hídrica al suelo (Tabla 26). Ésta relación ha sido utilizada como parámetro de predicción de fisiopatías en manzanos, especialmente de bitter pit (Sió *et al.*, 1998; Nachtigall y Freire, 1998). En este sentido, Piestrzeniewicz y Tomala (2001) ha manifestado que cuando la relación K/Ca en frutos maduros de manzana 'Jonagold' no excede de 28, sólo alrededor del 2% de los frutos pueden ser afectados por bitter pit. Por otra parte, Drahorad y Aichra (2001) mencionan que la relación debe ser inferior de 30-35 para 'Golden Delicious'.

La alta relación K/Ca, obtenida en la pulpa de los frutos en recolección, independientemente del año de evaluación, puede justificar la alta incidencia de la fisiopatía en los frutos tras el período de almacenamiento, aunado a que la concentración de calcio en pulpa fue inferior a la descrita por Dris *et al.* (1998) y por Johnson (1980) quienes señalan que, de manera general, las concentraciones de calcio por encima de 45- 60 mg kg⁻¹ de peso fresco de fruto son consideradas satisfactorias. Sin embargo, diversos factores precosecha pueden estar relacionados con los trastornos fisiológicos que pueden sufrir las frutas en postcosecha (Ferguson *et al.*, 1999).

Al igual que la concentración de nutrientes a nivel de frutos, los efectos diferenciales de los tratamientos de irrigación sobre el estado nutricional de los árboles a nivel foliar fue mínima, independientemente de la época de muestreo y del ciclo productivo evaluado (Tablas 27 y 28). Sólo se evidenciaron diferencias significativas

para el K y el Ca. Aunque para el K se detectaron las diferencias a los 75 DDPF de las temporadas de 2006 y 2007 y en el momento de la recolección para ciclos productivos 2007 y 2008 mientras que, para el Ca, únicamente a los 98 y 146 DTPF del ciclo de 2007, respectivamente. La concentración de estos nutrientes se incrementó significativamente con la disponibilidad hídrica, tendencia que han manifestado la mayoría de los elementos minerales. Resultados similares han sido descritos por Boland *et al.* (2000) en melocotonero y por Nakajima *et al.* (2004) en manzanos. Sin embargo, éste último únicamente para el K.

La variación en la concentración de K podría suponer un efecto de competencia entre las estructuras vegetativas y las reproductivas, influenciado por los regímenes de riego aplicados dada la alta movilidad que presenta el K. Sin embargo, a pesar de que los frutos de manzanos en crecimiento son considerados fuertes sumideros en términos de traslocación de nutrientes, la escasez de diferencias estadísticas en el estado nutricional de los frutos puede indicar que el descenso en la concentración a nivel foliar del potasio con el incremento de la restricción hídrica al suelo, es consecuencia de un efecto indirecto en la modificación de la transpiración por la reducción de la apertura estomática como resultado de los diferentes aportes hídricos al suelo (Nakajima *et al.*, 2004), y no por efectos de competencia.

Aunque el contenido de agua en el suelo y los cambios en las condiciones de ésta tienen un efecto importante en la asimilación de los nutrientes, los regímenes de riego ensayados no fueron lo suficientemente estresantes como para causar alteraciones en el estado nutricional de los árboles. No obstante, para determinar el umbral crítico de potencial hídrico que cause perturbaciones en la nutrición mineral de las plantas de manzano, es necesario imponer estreses hídricos más severos, no justificables en los sistemas de producción hortícola.

En general, la concentración de los elementos minerales evaluados estuvo dentro del rango estándar de valores considerados como normales para hojas de manzanos excepto para el zinc, el cual se presentó en concentraciones por debajo del rango óptimo independientemente del tratamiento aplicado y de la época de muestreo (Gagnard, 1984).

Tabla 27. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la sobre la concentración de macronutrientes a nivel foliar (% MS) en manzanos 'Golden Reinders', en diferentes fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).

Tratamientos (ETc)	N	P	K	Ca	Mg	
	DTPF					
2006	75					
	T50	2,90	0,19	1,51 b	1,52	0,33
	T75	2,85	0,18	1,51 b	1,45	0,33
	T100	2,93	0,21	1,63 a	1,47	0,32
	98					
	T50	2,73	0,17	0,98	1,72	0,46
	T75	2,68	0,17	1,08	1,80	0,53
	T100	2,75	0,18	1,11	1,65	0,49
	2007	75				
T50		2,51	0,18	1,05 b	1,90	0,34
T75		2,58	0,18	1,09 b	1,79	0,33
T100		2,71	0,18	1,22 a	1,73	0,31
98						
T50		2,63	0,16	0,86	2,08 b	0,37
T75		2,67	0,16	0,85	2,43 a	0,38
T100		2,76	0,16	0,88	2,41 a	0,34
146 (Recolección)						
T50	2,49	0,14	0,98 b	2,43	0,34	
T75	2,54	0,15	1,15 a	2,34	0,33	
T100	2,51	0,15	1,21 a	2,68	0,32	
2008	75					
	T50	2,87	0,18	1,13	2,17	0,48
	T75	2,81	0,17	1,14	2,27	0,47
	T100	2,93	0,17	1,20	2,31	0,48
	120					
	T50	2,59	0,15	0,98	2,19	0,45
	T75	2,54	0,16	0,92	2,14	0,45
	T100	2,59	0,16	0,96	2,18	0,45
	164 (Recolección)					
	T50	2,24	0,15	0,88 b	2,10	0,43
	T75	2,19	0,15	0,91 b	2,10	0,42
T100	2,27	0,16	1,09 a	2,12	0,41	

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
DTPF: Días tras plena floración.

Tabla 28. Efecto de diferentes regímenes hídricos sobre la concentración de micronutrientes a nivel foliar (mg 100g⁻¹ MS) en manzanos 'Golden Reinders', en diferentes fechas de muestreo, en 3 ciclos productivos (2006 - 2008).

Tratamientos (ETc)		Fe	Mn	Cu	Zn	B
		DTPF.				
2006		75				
	T50	134,27	49,46	11,93	10,72	-
	T75	114,67	49,71	13,94	10,72	-
	T100	118,78	49,37	13,85	11,16	-
		98				
	T50	146,37	73,78	12,73	9,85	-
	T75	143,19	75,87	13,86	10,56	-
	T100	141,42	77,89	14,34	10,26	-
2007		75				
	T50	47,54	43,46	8,90	10,03	74,46
	T75	51,17	43,83	9,89	9,61	72,92
	T100	41,01	41,73	10,67	8,36	74,21
		98				
	T50	64,04	44,46	10,94	6,27	77,88
	T75	68,62	49,22	8,01	6,20	79,54
	T100	66,76	47,59	8,58	6,61	79,37
		146 (Recolección)				
	T50	133,61	49,04	6,62	7,56	22,14 b
	T75	133,13	51,06	7,34	6,88	25,30 a
	T100	127,56	48,37	8,01	7,12	24,61 a
2008		75				
	T50	102,45	52,70	7,04	8,79	28,48
	T75	90,35	57,61	6,34	8,79	29,01
	T100	93,99	57,74	7,08	7,93	30,23
		120				
	T50	101,26	62,45	6,54	5,54	35,64
	T75	108,24	63,78	6,77	5,84	32,87
	T100	106,61	58,59	7,02	6,33	31,41
		164 (Recolección)				
	T50	120,53	63,04	7,09	7,26	26,33
	T75	115,37	68,19	7,57	6,81	29,53
	T100	114,22	66,03	7,78	7,39	30,04

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración.

Se observó además, que la concentración de algunos nutrientes (N, P, K, Mn, Cu y Zn) decreció con el transcurrir de la estación, mientras que la cantidad de otros, como Ca, Mg y Fe aumentó (Tablas 27 y 28). Estos cambios estacionales en la concentración de nutrientes expresados en base a materia seca están en concordancia con lo descrito por otros autores (Neilsen y Neilsen, 2003) y podrían ser explicados en función de la movilidad de los diversos nutrientes en los órganos. A medida que envejece el tejido foliar acumula Mg, Ca y otros elementos poco móviles como el Fe, mientras que los más fácilmente traslocables como el N, P y especialmente el K se redistribuyen hacia las hojas jóvenes disminuyendo su concentración conforme la planta madura (Gil, 1995).

Al respecto, se señala que la concentración de los elementos nutritivos a nivel foliar en árboles de manzano no es estable dentro de la estación de crecimiento (Morgan y Hennerty, 1975), pues depende del aporte de nutrientes y del ciclo interno del árbol, que cambia según el estado de desarrollo de las hojas y de los brotes (Neilsen y Neilsen, 2003). Inclusive, la posición del árbol de donde se toman las muestras foliares tiene importantes implicaciones en el diagnóstico foliar (Haynes y Goh, 1980).

Estos resultados ponen de manifiesto que las condiciones edafoclimáticas del valle del Ebro permiten restringir el aporte hídrico a los árboles adultos de manzanos 'Golden Reinders' hasta un 50 % de las exigencias máximas del cultivo sin causar alteraciones en la nutrición mineral del árbol ni la concentración de nutrientes de los frutos.

Ensayos de fertilización nitrogenada.

Dentro de los objetivos citados en el correspondiente capítulo de esta Memoria de Tesis, se planteó evaluar la respuesta fisiológica y agronómica del manzano, cultivado bajo las condiciones de valle del Ebro, a la aplicación de distintas dosis de abono nitrogenado.

Las evaluaciones se realizaron durante 4 años experimentales, período en el que se llevaron a cabo 6 ensayos con árboles adultos de las variedades 'Golden Reinders' y 'Smoother Golden Delicious', y un séptimo experimento realizado con árboles jóvenes de 'Smoother Golden Delicious', plantados en macetas.

Para facilitar el seguimiento del trabajo ejecutado en esta Memoria, hemos fraccionado los ensayos realizados sobre árboles adultos en 3 grupos de experimentos, a saber: fertilización nitrogenada edáfica, sobrefertilización nitrogenada y fertilización nitrogenada a dosis bajas, aunque los presentaremos de manera consecutiva.

Inicialmente, haremos una breve descripción del contenido de NO_3^- en la solución del suelo y de las aguas de riego de las zonas decretadas como vulnerables a la contaminación de NO_3^- , donde hemos realizado algunos de los ensayos anteriormente señalados.

Posteriormente, nos referiremos a la influencia de los diferentes tratamientos ensayados sobre el crecimiento de órganos vegetativos, la capacidad fotosintética foliar, el crecimiento de los órganos reproductivos, la producción, los distintos parámetros que definen la calidad del fruto y por último sobre el estado nutricional de los árboles.

Contenido de NO_3^- en la solución del suelo.

En el ensayo realizado en la explotación agrícola La Pardina (ensayo 1), la concentración de NO_3^- en la solución del suelo se incrementó con la fertilización nitrogenada (Tabla 29), aunque en los lixiviados del tratamiento sin aporte de N (0 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$) hemos observado presencia de NO_3^- , lo cual pudo deberse a los aportes indirectos de N realizados a través del agua de riego, así como a la mineralización de la

materia orgánica y/o al efecto residual de las aplicaciones de N de las campañas anteriores.

Tabla 29. NO_3^- en el agua de riego e influencia de la fertilización nitrogenada edáfica sobre su concentración en la solución del suelo.

Explotación agrícola la Pardina (35 DTPF, año 2006)						
Tratamientos						
N0 ₃ ⁻ en agua de riego	Profundidad de muestreo (cm)	0 UFN	40 UFN	80 UFN	120 UFN	200 UFN
Nitratos (mg L ⁻¹)						
22,5	30	6,0	18,7	15,7	19,0	23,4
	60	-	-	-	-	-
Explotación agrícola La Rinconada (año 2008)						
		32 UFN (Tb)	Tb + 32 UFN NH ₄ NO ₃	Tb + 32 UFN CO(NH ₂) ₂		
80 DTPF						
16,9	30	20,5	39,1	24,6		
	60	25,1	40,9	36,0		
120 DTPF						
20,2	30	19,5	28,1	24,0		
	60	23,3	37,4	35,3		
140 DTPF						
19,2	30	21,4	40,8	30,5		
	60	24,9	45,2	31,6		
Explotación agrícola La Rinconada (año 2009)						
		24 UFN (Tb)	Tb + 32 UFN NH ₄ NO ₃	Tb + 32 UFN CO(NH ₂) ₂		
85 DTPF						
27,1	30	20,8	35,4	23,1		
	60	22,5	41,3	29,6		
110 DTPF						
35,5	30	22,9	41,9	24,0		
	60	20,7	51,2	32,1		
130 DTPF						
36,0	30	21,2	30,3	32,8		
	60	21,6	31,4	48,5		

Tb: Tratamiento basal.

DTPF: Días tras plena floración.

Hay que resaltar que, durante el año de 2006, en la finca La Pardina, se presentaron dificultades prácticas a la hora obtener muestras de lixiviados, por lo que se decidió anular la mayoría de las observaciones y presentar sólo los datos del muestreo realizado a los 35 DTPF, por ser éste el que aportó información válida de la mayor parte de tratamientos y sus correspondientes repeticiones.

En la finca La Rinconada, a diferencia del ensayo 1, pudimos realizar, para los ensayos 5 y 6 (ciclos productivos de 2008 y 2009, respectivamente), mayor cantidad de muestreos. En ambos ensayos, se encontró una alta concentración de NO_3^- tanto en el agua de riego como en la solución del suelo (Tabla 29).

Según estos datos, la adición de fertilizante nitrogenado vía edáfica aumenta la concentración de NO_3^- en la solución del suelo y con ello la disponibilidad de N para las plantas. Sin embargo, la acumulación de éste ión en la solución no parece ser proporcional a la cantidad de N aplicado a través de la fertilización.

La mayor concentración de NO_3^- con la profundidad del suelo evidencia que hubo un lavado de por debajo de la zona radicular, lo que indica, en cierto modo, que los niveles de N presentes en la solución del suelo superaron la capacidad de absorción de los árboles, inclusive hasta con la dosis (Tb) empleada por el agricultor (Tabla 29)

Crecimiento vegetativo.

En función de los resultados obtenidos a partir de los ensayos 1 y 2, dedujimos que la fertilización nitrogenada dirigida al suelo no afecta significativamente el crecimiento de los árboles de manzano expresado en términos de longitud media de los brotes terminales, aunque también se observó que los brotes tendieron a ser de mayor longitud en la medida en que aumentó la dosis del abonado (Tabla 30).

Para el resto de variables biométricas evaluadas a nivel de brotes pudimos observar (Tabla 30), que sólo la sección de área de la base de los brotes de 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) manifestó un efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos nitrogenados edáficos, al ser dicho parámetro similar en los árboles a los que se adicionó N y, a su vez mayor que en los no fertilizados. Por otra parte, para ambos ensayos, y en comparación al tratamiento de $0 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, el número de

nudos y el peso seco de los brotes tendió a ser superior en los árboles a los que se adicionó N.

Tabla 30. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre variables morfológicas de los brotes de manzanos y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayos 1 y 2).

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Longitud (cm)	Sección base (mm ²)	Nº de nudos brote ⁻¹	Longitud entrenudos (cm)	Peso seco (g)	Contenido de agua (%)
Ensayo 1						
0	48,89	-	27	1,82	10,48	47,86
40	55,52	-	31	1,83	11,89	48,74
80	55,90	-	32	1,74	10,73	48,17
120	59,27	-	32	1,85	11,82	49,09
200	55,73	-	33	1,71	10,61	48,64
Significación	ns	-	ns	ns	ns	ns
Ensayo 2						
0	29,51	11,88 b	12	2,57	3,43	49,42
32	34,81	15,03 a	15	2,37	3,65	48,12
64	32,13	17,97 a	13	2,41	3,78	49,64
97	35,42	19,85 a	15	2,35	4,59	47,83
Significación	ns	*	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Aunque la mayoría de los parámetros de crecimiento evaluados en los brotes terminales no se modificaron significativamente por la disponibilidad de N, los resultados no dejaron de ser sugerentes. Al respecto, y si tomamos en consideración varios factores: a) en condiciones reales de campo la fertilización nitrogenada en leñosas es poco concluyente debido a la dificultad de controlar la efectividad de los tratamientos; b) que los árboles de 'Golden Reinders' (ensayo 1), cultivados en una

zona de alto riesgo por contaminación de NO_3^- tenían 20 años de edad en el momento del estudio c) que los árboles del ensayo 2, de 5 años de edad, no habían recibido aportes inorgánicos de N hasta que iniciamos las evaluaciones el ensayo; la tendencia al aumento de la mayoría de las variables evaluadas a nivel de brotes nos sugieren que, el crecimiento de los árboles puede ser dependiente de la disponibilidad de N, más aún si tenemos en cuenta lo señalado por Marsal *et al.* (2005) quienes han manifestado que el abonado nitrogenado no produce efectos detectables a nivel de planta, como mínimo, hasta el tercer año de reiterar el tratamiento sobre los mismos árboles.

El N influye en la acumulación de biomasa de las especies leñosas (Médiène *et al.*, 2002). Sin embargo, se ha señalado que la contribución relativa del N adicionado vía edáfica al crecimiento anual del árbol depende de la fertilidad del suelo (Millard, 1996), del calendario de suministro del fertilizante (Weinbaum *et al.*, 1984; Sánchez *et al.*, 1992) y de la edad de los árboles (Miller y Miller, 1987).

Al evaluar la evolución del crecimiento de los brotes, a partir de los datos obtenidos a lo largo de las temporadas de crecimiento de 2006 y 2007 (ensayos 1 y 2, respectivamente), observamos que han seguido el patrón de curvas sigmoideas simples ($P \leq 0,001$), con coeficientes de determinación (r^2) que variaron entre 0,965 - 0,998 (Tabla 31).

Esta bondad de ajuste nos indica que el modelo de regresión ha sido capaz de explicar la variabilidad del crecimiento a partir de los parámetros calculados. Así, se observa (Figura 13) que durante las primeras fases del desarrollo la velocidad de crecimiento de los brotes es lenta y luego aumenta hasta alcanzar un máximo, para posteriormente disminuir.

Los análisis estadísticos de los parámetros que han resultado del ajuste de las curvas sigmoideas calculadas a partir del crecimiento de los brotes en los ensayos 1 y 2 revelaron que no existen influencias significativas que pudieran atribuirse a los tratamientos nitrogenados ensayados, independientemente de la variedad estudiada y de la zona de cultivo (Tabla 32). Sin embargo, se debe comentar que, en ambos ensayos, en el tratamiento al que se adicionó la menor dosis de N ($0 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$), los brotes presentaron, teóricamente, la menor longitud máxima final (C), mientras que la dosis

más alta no produjo los brotes de mayor longitud teórica, sino que ocasionó un descenso en su tamaño final, por lo que la dosis de N aplicado parece haber inducido una relación cuadrática (Figura 13).

Tabla 31. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos 'Golden Reinders' (Ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (Ensayo 2) fertilizados vía edáfica (ensayos 1 y 2).

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Ecuación	Coefficiente de determinación
Ensayo 1		
0	$Y = \frac{51,990}{1 + e^{-0,07781 * (x-29,02)}}$	$r^2 = 99,4286$
40	$Y = \frac{57,927}{1 + e^{-0,07860 * (x-31,72)}}$	$r^2 = 99,6793$
80	$Y = \frac{56,611}{1 + e^{-0,06832 * (x-31,19)}}$	$r^2 = 97,8780$
120	$Y = \frac{64,428}{1 + e^{-0,06838 * (x-37,52)}}$	$r^2 = 98,5217$
200	$Y = \frac{55,213}{1 + e^{-0,08598 * (x-30,47)}}$	$r^2 = 99,8161$
Ensayo 2		
0	$Y = \frac{30,174}{1 + e^{-0,08216 * (x-14,88)}}$	$r^2 = 96,4705$
32	$Y = \frac{36,474}{1 + e^{-0,09444 * (x-14,18)}}$	$r^2 = 98,4797$
64	$Y = \frac{32,613}{1 + e^{-0,01345 * (x-13,85)}}$	$r^2 = 99,6070$
97	$Y = \frac{36,102}{1 + e^{-0,07172 * (x-9,42)}}$	$r^2 = 98,1913$

Y: Longitud del brote en cm

x: Tiempo en días tras plena floración.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

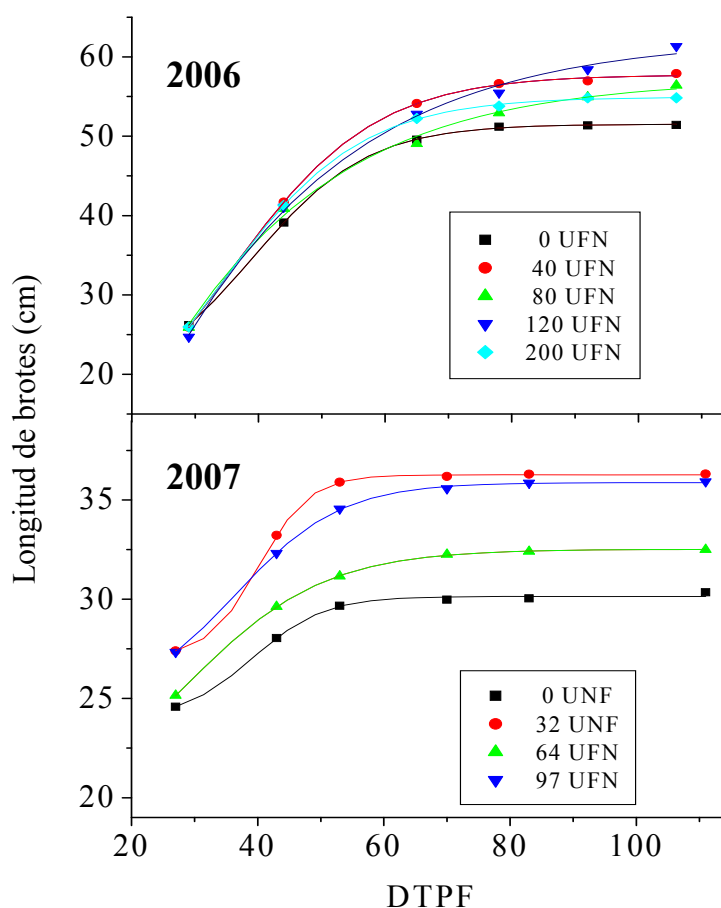


Figura 13. Curvas de crecimiento de brotes de manzanos afectados por la fertilización nitrogenada (2006: ensayo 1; 2007: ensayo 2).

Curiosamente, la adición de N a los árboles desarrollados en zonas declaradas como vulnerables por el alto riesgo a la contaminación por NO_3^- (ensayo 1), parece ocasionar que los brotes manifiesten una ralentización o un retraso en alcanzar la máxima razón de crecimiento. Sin embargo, el N al ser aplicado, vía edáfica, a los árboles cultivados en ambientes de bajo riesgo a contaminación (ensayo 2) parece acelerar el crecimiento vegetativo (Tabla 32).

De forma similar al crecimiento de brotes, los tratamientos nitrogenados prácticamente no afectaron significativamente las variables biométricas de las hojas (Tablas 33 y 34), aunque se observa cierta tendencia a que el área de las hojas se incremente con el aumento de la dosis de N aplicada, y que resultó estadísticamente significativo ($P \leq 0,05$) a los 105 DTPF (Tabla 34).

Tabla 32. Parámetros de crecimiento de brotes de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente.

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Parámetros de crecimiento		
	C (cm)	M (DTPF)	m (cm/día)
ensayo 1			
0	52,0	29,0	1,0
40	57,9	31,7	1,1
80	56,6	31,2	0,9
120	64,4	37,5	1,0
200	55,2	30,5	1,2
Significación	ns	ns	ns
ensayo 2			
0	30,2	14,9	0,62
32	36,5	14,2	0,85
64	32,6	13,9	0,94
97	36,1	9,4	0,65
Significación	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

C: Longitud final del brote.

M: DTPF en los que ocurre 'm'.

m: Máxima razón de crecimiento.

DTPF: Días tras plena floración.

Tabla 33. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 81 DTPF (ensayo 1).

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Área foliar (cm ²)	Humedad (%)	Peso Seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)
0	40,9	56,79	0,35	8,56
40	39,3	56,16	0,32	8,20
80	47,0	56,62	0,36	7,77
120	40,3	55,56	0,32	7,82
200	40,7	56,41	0,34	7,48
Significación	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

A pesar de no haberse observado efectos significativos de los tratamientos nitrogenados sobre las variables foliares estudiadas, las hojas de los árboles cultivados en el campo experimental de la EEAD (ensayo 2) tendieron a tener mayor superficie y a acumular más masa seca en la medida en que se incremento el aporte de N, en comparación a las hojas de los árboles 'Golden Reinders', que no manifestaron un comportamiento definido.

Tabla 34. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 2).

Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Área foliar (cm ²)	Humedad (%)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)	Área foliar (cm ²)	Humedad (%)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)
46 DTPF					105 DTPF			
0	26,9	57,89	0,32	11,72	26,6 b	53,52	0,33	12,2
32	28,7	59,45	0,33	11,59	29,7 ab	53,16	0,37	12,4
64	30,6	57,95	0,37	11,98	31,9 a	53,75	0,37	11,7
97	30,9	60,87	0,36	11,78	31,8 a	52,15	0,37	11,6
Significación	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tal comportamiento en los parámetros foliares de los árboles de 'Golden Reinders' (ensayo 1) puede ser debido a que éste ensayo se realizó sobre una plantación comercial en la que las plantas de manzano habían sido fertilizadas con abonos nitrogenados a lo largo de aproximadamente 20 años. Es de señalar que las respuestas claras y precisas de las leñosas a la fertilización nitrogenada es más típica de estudios bajo condiciones controladas que en condiciones de campo (Nielsen *et al.*, 1996).

A los 120 DTPF evaluamos, a través de la medición de la radiación fotosintéticamente activa, la cantidad de luz interceptada por la copa de los árboles de manzano 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2). Como se observa en la Figura 14, el flujo de luz interceptado por los árboles se incrementó con el aporte nitrogenado. Sin embargo, los análisis estadísticos no detectaron diferencias significativas entre los tratamientos.

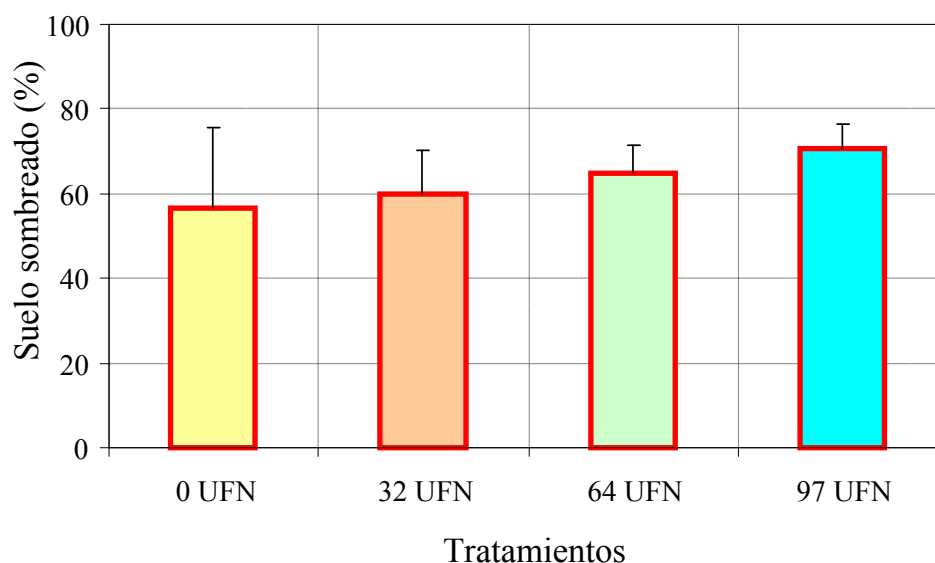


Figura 14. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre el porcentaje de suelo sombreado al pie de los árboles de manzano ‘Smoothie Golden Delicious’ (ensayo 2).

Este menor flujo de luz a través de las copas con el aumento de las dosis del abonado fue concordante con la tendencia al mayor desarrollo de la superficie foliar experimentada por los árboles (Tabla 34), resultados que están en consonancia con el hecho de que la intercepción de la radiación es dependiente tanto del tamaño de las hojas como de su cantidad (Lawlor, 2002).

Tanto la STAT (Webster y Hollands, 1999; Mataa, 2000; Barden *et al.*, 2002), como su incremento (Marsch *et al.*, 1996), son variables frecuentemente utilizadas para estimar la acumulación del crecimiento vegetativo en leñosas, al proporcionar información integral referente al crecimiento del árbol. Sin embargo en nuestro caso las aplicaciones de N no dieron lugar a incrementos significativos en la STAT (Tabla 35). Al respecto, varios trabajos científicos confirman que en condiciones de campo, los manzanos raramente responden a las aplicaciones de N (Wrona y Sadowski, 1996; Widmer *et al.*, 2006; Wrona, 2006).

Tabla 35. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' al finalizar el ensayo (Ensayo 2).

Incremento de la sección de tronco	Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)				Significación
	0	32	64	97	
	3,34	4,67	5,08	2,85	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Como se ha especificado en el capítulo de Material y Métodos, el ensayo 3 se planteó con la finalidad de analizar la respuesta del manzano cultivado en una zona de alto riesgo a la contaminación por NO_3^- a la sobrefertilización nitrogenada, práctica que según Fernández-Escobar *et al.* (2009) es muy común en las plantaciones comerciales y que consiste en la adición de fertilizantes nitrogenados en cantidades que exceden los requerimientos de las plantas para alcanzar los máximos rendimientos.

En nuestro ensayo, el crecimiento de los árboles varió principalmente a consecuencia de la forma de suministro de la sobrefertilización nitrogenada, obteniéndose para algunos de los componentes del crecimiento evaluados diferencias particularmente pronunciadas al aplicar el nitrógeno vía foliar.

Como pudimos observar (Tabla 36), la sobrefertilización nitrogenada no afectó significativamente el crecimiento de los árboles de manzano expresado en términos de longitud media de los brotes. Sin embargo, encontramos que con la sobrefertilización foliar se consigue aumentar considerablemente la longitud de los brotes y afectar significativamente ($P \leq 0,05$) el crecimiento en términos de área de la sección basal brotes, número de nudos y peso seco, lo que ocasiona, en conjunto, árboles con mayor desarrollo vegetal.

Tabla 36. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre variables morfológicas de brotes de manzanos 'Golden Reinders' y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayo 3).

Nitrógeno (UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$)	Longitud (cm)	Sección base (mm^2)	Nº de nudos brote $^{-1}$	Longitud entrenudos (cm)	Peso seco (g)	Contenido de agua (%)
32 (Tb)	32,06	13,30 b	20 b	1,57	7,37 b	48,33
Tb + 65 UFN edáfico	37,35	14,88 ab	21 b	1,66	7,31 b	47,97
Tb + 87 UFN edáfico	34,50	13,97 b	21 b	1,63	7,26 b	47,47
Tb + 65 UFN foliar	44,44	15,73 a	28 a	1,59	11,05 a	47,62
Significación	ns	*	*	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

En ensayos previos se ha demostrado que las aplicaciones excesivas de N ocasionan, en general, plantas con gran desarrollo vegetativo (Navarro y Navarro, 2000). Sin embargo, usualmente son necesarios suelos con bajo contenido en N para que los manzanos respondan al aumento de las aplicaciones de fertilizantes nitrogenados (Neilsen y Neilsen, 1996). No obstante, bajo las condiciones de nuestro estudio, los resultados parecen indicar que los árboles, cuando son excesivamente sobrefertilizados por vía edáfica, manifiestan un mecanismo de regulación que impide mayor asimilación de este elemento, ya que las dosis más altas no provocan un mayor desarrollo vegetativo, ni una mayor acumulación de nutrientes, como veremos más adelante. Sin embargo, hay que mencionar que la disponibilidad de N para las plantas no está definida únicamente por la cantidad de N mineral contenido en la zona de raíces, sino también por las condiciones del suelo que a su vez definen el crecimiento y actividad de las raíces (Lemaire y Maynard, 1997).

La dinámica del crecimiento de los árboles del ensayo 3, expresada en términos de longitud de brotes, se expone en la Figura 15. Se observa que hay un aumento en el crecimiento con la sobrefertilización y con la vía de suministro, siguiendo curvas sigmoideas simples con buen ajuste ($P \leq 0,001$) y con coeficientes de determinación entre 0,869 - 0,957 (Tabla 37), lo que indica, al igual que los ensayos anteriores, que el modelo de regresión calculado es capaz de explicar la variabilidad del crecimiento.

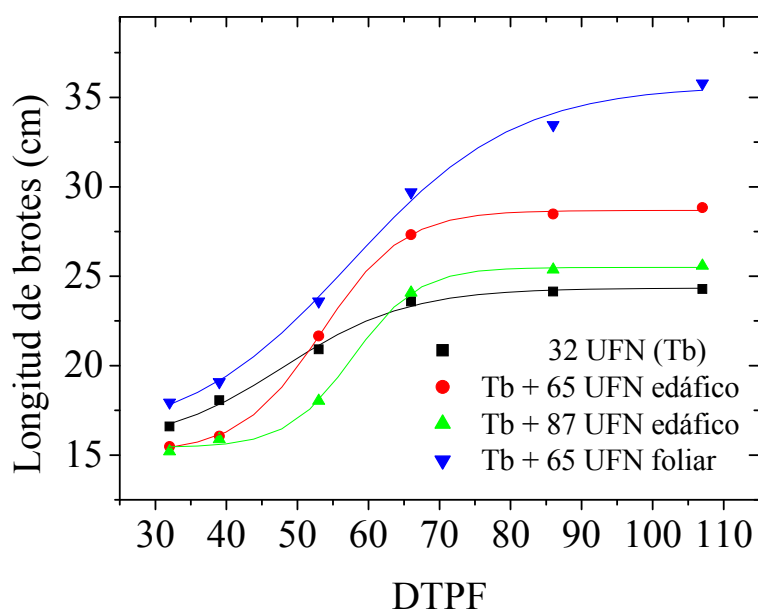


Figura 15. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la evolución del crecimiento de brotes de manzanos (ensayo 3).

Tabla 37. Ecuaciones logísticas de crecimiento de brotes terminales de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 3).

Nitrógeno (UFN ha^{-1} año^{-1})	Ecuación	Coefficiente de determinación
32 UFN (Tb)	$Y = \frac{24,533}{1 + e^{-0,06890 * (x-22,17)}}$	$r^2 = 95,7488$
Tb + 65 UFN edáfico	$Y = \frac{30,533}{1 + e^{-0,05570 * (x-31,60)}}$	$r^2 = 94,1709$
Tb + 87 UFN edáfico	$Y = \frac{27,405}{1 + e^{-0,04460 * (x-28,31)}}$	$r^2 = 86,9093$
Tb + 65 UFN foliar	$Y = \frac{38,879}{1 + e^{-0,03805 * (x-38,84)}}$	$r^2 = 95,4159$

Tb: Tratamiento basal.

Y: Longitud del brote en cm.

X: Tiempo en días.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Al analizar estadísticamente los parámetros que han resultado del ajuste de las curvas sigmoideas calculadas a partir del crecimiento de los brotes, obtuvimos sólo diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para el parámetro que define la longitud final de los brotes (C). Al respecto, observamos en la Tabla 38 que los brotes de los árboles sobrefertilizados foliarmente alcanzaron el mayor valor teórico de longitud final en comparación al resto de los tratamientos, los cuales se comportaron estadísticamente similares entre sí

En la Tabla 38, se aprecia que los tratamientos edáficos (32 UFN (Tb), Tb + 65 UFN y Tb + 87 UFN) pueden describirse mediante una relación cuadrática entre la cantidad de abono adicionado y los parámetros C y M, respectivamente. Es decir, la tendencia al aumento manifestada por estos parámetros con el aporte nitrogenado mostró un declive con el aporte más alto de N.

Tabla 38. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre los parámetros de crecimiento de brotes de manzano 'Golden Reinders' (ensayo 3).

Tratamientos UFN ha^{-1} año $^{-1}$	Parámetros de crecimiento		
	C (cm)	M (DTPF)	m (cm/día)
32 (Tb)	24,5 b	22,2	0,4
Tb + 65 UFN edáfico	30,5 b	31,6	0,4
Tb + 87 UFN edáfico	27,4 b	28,3	0,3
Tb + 65 UFN foliar	38,9 a	38,8	0,4
Significación	*	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Tb: Tratamiento basal.

C: Longitud final del brote.

M: DTPF en los que ocurre 'm'.

m: Máxima razón de crecimiento.

DTPF: Días tras plena floración.

En el ensayo 3, al igual que en el ensayo 1, la adición de N a los árboles desarrollados en zonas declaradas como vulnerables por su uso excesivo parece apoyar la hipótesis de que la fertilización nitrogenada ocasiona en los brotes una ralentización o retraso en alcanzar la máxima razón crecimiento, y de manera especial al ser los árboles abonados vía foliar (Tabla 38).

En la Tabla 39 se exponen los resultados obtenidos a los 60 y 107 DTPF, tanto del área como del peso seco foliar, peso específico y contenido de humedad de las hojas de los árboles del ensayo 3. Como podemos observar, a los 60 DTPF, el área foliar fue significativamente superior ($P \leq 0,05$) en el tratamiento de sobrefertilización foliar y en el de mayor dosis por vía edáfica (Tb + 87 UFN), en comparación al tratamiento basal y al Tb + 65 UFN, por vía edáfica, tratamientos que a su vez no presentaron diferencias significativas entre sí. Sin embargo, para la misma fecha, sólo con la sobrefertilización foliar, las hojas presentaron significativamente mayor peso seco ($P \leq 0,05$), mayores peso foliar específico y porcentaje de humedad, aunque estas 2 últimas variables no fueron significativamente diferentes.

Tabla 39. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la biometría de las hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 3).

Tratamientos (UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$)	Área foliar (cm^2)	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm^{-2})	Área foliar (cm^2)	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm^{-2})
	60 DTPF				107 DTPF			
32 (Tb)	36,9 b	0,82	0,34 b	9,08	45,8	1,02	0,451	9,77
Tb + 65 UFN edáfico	36,4 b	0,78	0,34 b	9,24	50,7	1,25	0,52	10,35
Tb + 87 UFN edáfico	41,7 a	0,90	0,36 b	8,53	47,5	1,08	0,49	10,29
Tb + 65 UFN foliar	42,9 a	1,08	0,42 a	9,91	40,7	0,98	0,45	10,92
Significación	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

Curiosamente, con el avance de la estación (107 DTPF) la mayoría de los caracteres biométricos evaluados a nivel de hoja tendieron a disminuir con la sobrefertilización nitrogenada por vía foliar, aunque no se detectaron diferencias significativas entre los tratamientos lo que indica que las diferencias detectadas a los 60 DTPF hayan sido producto de la variabilidad, Aunque el aumento en la dosis del

abonado por vía edáfica tendió nuevamente a producir una respuesta cuadrática (Tabla 39).

Hasta el momento, hemos observado que la sobrefertilización nitrogenada dirigida a las hojas propicia en mayor cuantía el crecimiento de la masa vegetativa de los manzanos en comparación a la sobrefertilización por vía edáfica. Al respecto, se ha señalado que, a pesar de que el N aplicado al suelo aumenta efectivamente el crecimiento de las plantas (Miller y Cramer, 2004), el manzano responde de manera más efectiva a los aportes de N aplicados por vía foliar respecto a las aplicaciones edáficas (Hill-Cottingham y Lloyd-Jones, 1975). Sin embargo, en nuestro estudio (ensayo 3) la influencia detectada de la sobrefertilización foliar sobre el crecimiento vegetativo posiblemente sea consecuencia de un efecto indirecto de la vía de suministro ya que en la recolección, al evaluar tanto la carga de cosecha como la productividad, hemos observado que éstos parámetros han sido significativamente ($P \leq 0,05$) menores (Tabla 75; Pág. 196), lo que aumentaría teóricamente la disponibilidad de carbono aprovechable por otras partes del árbol.

Al igual que en el ensayo 2, el flujo de radiación fotosintéticamente activa que atravesó la copa de los árboles a los 120 DTPF no resultó ser significativamente diferente entre los distintos tratamientos de sobrefertilización ensayados (Figura 16).

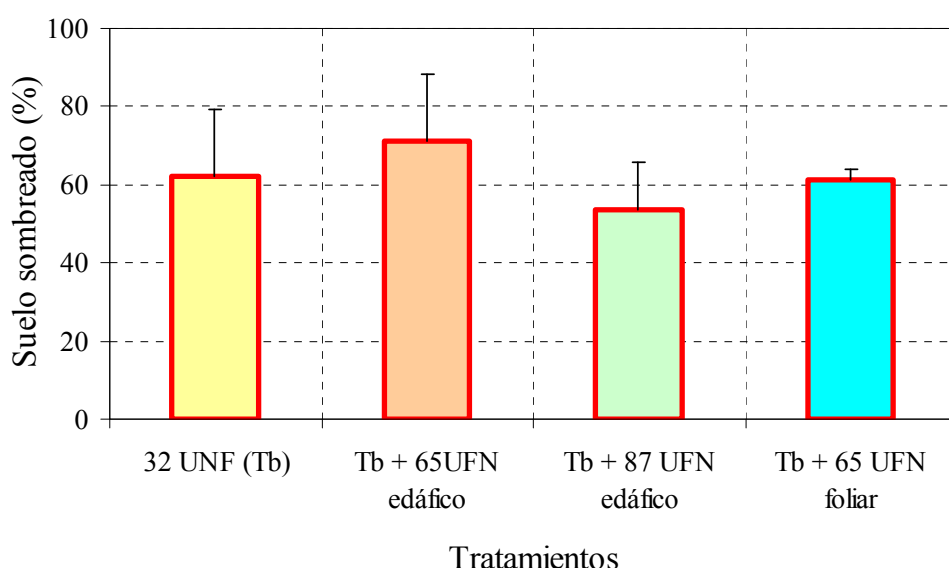


Figura 16. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el porcentaje de suelo sombreado al pie de los árboles de manzano ‘Golden Reinders’ (ensayo 3).

Como ya se ha mencionado, la intensidad del crecimiento vegetativo o vigor del árbol es generalmente evaluada a través de la STAT (Nesme *et al.*, 2005), variable empleada en diferentes campos de investigación de plantas, como por ejemplo: en forestales (Kytö *et al.*, 1999), en ecología (Moravie *et al.*, 1999) y en fruticultura (Nielsen *et al.*, 1997; Nielsen *et al.*, 1999; Lo Bianco *et al.*, 2003). En nuestro ensayo de sobrefertilización nitrogenada, el incremento de la STAT en términos relativos, no mostró efectos significativos de los tratamientos nitrogenados ensayados (Tabla 40).

Tabla 40. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Golden Reinders' al finalizar el ensayo (Ensayo 3).

Incremento de la sección de tronco	Tratamientos ($\text{UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$)				Significación
	32 UNF (Tb)	Tb + 65 UNF edáfico	Tb + 87 UNF edáfico	Tb + 65 UNF foliar	
	24,22	23,79	23,81	24,00	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

Tb: Tratamiento basal.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Nuestros resultados indican que, a pesar de ser el N uno de los elementos de mayor influencia para la vida de un vegetal (Monge *et al.*, 2007), el incremento relativo de la STAT tendió a ser ligeramente inferior con la sobrefertilización nitrogenada (Tabla 40), al contrario que con el crecimiento de brotes (Tabla 36; Pág. 154). Por lo que pudo ocurrir que, el tiempo en crecimiento de los brotes bajo sobrefertilización se prolongase a la vez que se redujo el tiempo para el crecimiento en grosor de las ramas y/o troncos.

En el ensayo 4, como la plantación no había sido abonada en los últimos 6 años, se pudieron realizar aplicaciones de N en dosis bajas. Tal suministro, al igual que en los ensayos de fertilización edáfica (ensayos 1 y 2), no afectó significativamente el crecimiento de los árboles expresado en términos de longitud media de los brotes terminales, aunque observamos que los brotes tendieron a ser de mayor longitud con la adición de los fertilizantes vía foliar (Tabla 41).

Los resultados obtenidos con la ejecución de este ensayo nos permitió corroborar que la fertilización foliar tiende a ocasionar árboles de mayor desarrollo vegetal en comparación a la edáfica (Tabla 41), lo que ratifica su mayor eficiencia en comparación a la dirigida al suelo (Kuepper, 2003). Sin embargo, este mayor desarrollo vegetal experimentado por los árboles fertilizados foliarmente podría suponer alteraciones en las concentraciones de otros nutrientes (Navarro y Navarro, 2000) o en la cosecha, aspectos que discutiremos más adelante.

Tabla 41. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre variables morfológicas de brotes de manzanos 'Smoother Golden Delicious' y sobre su contenido de humedad al finalizar el ensayo (ensayo 4).

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Longitud (cm)	Sección base (mm ²)	Nº de nudos brote ⁻¹	Longitud entrenudos (cm)	Peso seco (g)	Contenido de agua (%)
0 UFN	20,7	20,4 ab	18	1,1	1,6 b	45,5
32 UFN NH ₄ NO ₃ edáfica	18,1	17,9 b	15	1,2	1,3 b	49,3
32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	22,9	24,9 a	19	1,2	2,1 a	49,7
32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	21,7	22,7 ab	18	1,3	1,7 ab	48,7
Significación	ns	*	ns	ns	*	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

La mayor respuesta a la fertilización foliar quedó demostrada al observarse que, el crecimiento de los brotes, sólo en términos de área de la sección basal y de masa seca, ha sido significativamente superior ($P \leq 0,05$) en comparación al tratamiento en el que los árboles fueron fertilizado por vía edáfica, plantas que a su vez se comportaron de forma similar a las que no recibieron fertilizante nitrogenado (Tabla 41).

Por otra parte, la fertilización foliar a base de CO(NH₂)₂ ocasionó en los árboles, mayor desarrollo foliar al presentar las hojas mayor superficie individual y mayor masa seca, aunque sólo se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) a los 75 DTPF (Tabla 42). Sin embargo, a los 120 días tras la plena floración, estos parámetros de hoja, presentaron un comportamiento similar al anteriormente señalado, aunque no fueron significativamente distintos.

Tabla 42. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la biometría de hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 4).

Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Área foliar (cm ²)	Humedad (%)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)	Área foliar (cm ²)	Humedad (%)	Peso seco (g)	Peso específico (mg cm ⁻²)
	75 DTPF				120 DTPF			
0 UFN	38,0 b	59,2	0,33 b	8,77	32,7	57,5	0,34	10,4
32 UNF NH ₄ NO ₃ edáfico	37,3 b	59,3	0,33 b	8,95	32,6	57,3	0,35	10,6
32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	38,5 b	58,1	0,36 b	9,26	32,9	58,0	0,34	10,2
32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	43,6 a	59,8	0,39 a	9,04	36,5	58,3	0,35	9,6
Significación	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Se ha propuesto que la CO(NH₂)₂ es la formulación más adecuada para adicionar N vía foliar (Swietlik y Faust, 1984) debido a sus singulares propiedades fisicoquímicas, dentro de las cuales se incluye la apolaridad, rápida absorción, baja fitotoxicidad y alta solubilidad tanto en agua como en aceite (Knoche *et al.*, 1994; Yamada *et al.*, 1965), al mismo tiempo que destruye las ceras de la superficie de la hoja facilitando la permeabilidad (Malavolta, 1986).

En la actualidad existe un creciente interés en desarrollar programas de fertilización foliar en árboles frutales debido a la necesidad de reducir los altos niveles de NO₃⁻ en los acuíferos causados por la aplicación de N al suelo (Bondada *et al.*, 2006). En este sentido, la combinación del suministro foliar y edáfico de CO(NH₂)₂ en melocotoneros (Johnson *et al.*, 2001) o de sólo aplicaciones foliares en manzanos (Dong *et al.*, 2005a) han mantenido la productividad y calidad de los frutos en comparación a las tradicionales aplicaciones edáficas, reduciendo la cantidad de fertilizante nitrogenado, las pérdidas de N y la contaminación medioambiental.

Por otra parte, las dosis evaluadas en este ensayo no han sido suficiente para afectar significativamente el crecimiento del área de troncos de manzano 'Smoothie Golden Delicious' (Tabla 43).

Tabla 43. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre el incremento relativo (%) del área de la sección de tronco de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' al finalizar el ensayo (ensayo 4).

Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)					Significación
Incremento de la sección de tronco	0 UFN	32 UFN NH ₄ NO ₃ edáfico	32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	
	8,30	2,53	7,11	5,97	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

En conjunto se puede extraer de estos ensayos que el abonado nitrogenado, bajo las condiciones de estudio, no afecta fuertemente el crecimiento vegetativo del manzano. Sin embargo, cuando se aplica exceso de fertilizante nitrogenado por vía foliar los arboles tienden a desarrollar mayor masa vegetativa.

Capacidad fotosintética foliar y contenido de carbohidratos.

El desarrollo de las plantas depende, en gran medida, de la capacidad fotosintética y del subsiguiente reparto de carbohidratos. Así mismo, se ha reconocido el papel del N como nutriente esencial y componente estructural de moléculas como la rubisco y la clorofila (Evans, 1989; Makino y Osmond, 1991; Lattanzi *et al.*, 2004), razón por la cual ambos factores están muy relacionados con los procesos de crecimiento y producción agrícola.

En nuestro trabajo, la tasa de fotosíntesis medida en distintas fechas a lo largo del período vegetativo en los ensayos de fertilización nitrogenada edáfica (ensayos 1 y 2), no mostró diferencias significativas entre los tratamientos aplicados. Análogamente, los niveles de clorofila presentaron una respuesta afin (Tabla 44).

De acuerdo con los datos de distintos autores (Boussadia *et al.*, 2010; Keller *et al.*, 2001; Ciompi *et al.*, 1996), tanto el contenido de clorofila como la actividad fotosintética, en distintas especies de plantas, aumentan concomitantemente con la

concentración de nitrógeno foliar. Sin embargo, en nuestros estudios de fertilización edáfica, los tratamientos nitrogenados no afectaron el estado nutricional de los árboles, permaneciendo la concentración de N dentro de los valores considerados como adecuados para el óptimo desarrollo del cultivo (Gagnard, 1984). Sólo en el ensayo 2, los análisis estadísticos, dentro de cada fecha de evaluación, indicaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$), para el N, aunque únicamente en la recolección (Figura 30; Pág. 227) lo que puede justificar la falta de respuesta de la capacidad fotosintética foliar y del nivel de clorofilas a los tratamientos ensayados.

Tabla 44. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la tasa fotosintética neta y el contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) en diferentes fechas tras la floración.

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Fotosíntesis (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)			Clorofila (SPAD)		
	Ensayo 1					
	DTPF	105	127	105	127	
0	14,6	11,4		53,4	49,4	
40	14,6	8,6		55,9	47,1	
80	15,3	10,5		53,3	52,7	
120	15,7	12,6		55,0	51,8	
200	14,1	11,5		54,7	52,9	
Significación	ns	ns		ns	ns	
Ensayo 2						
DTPF	45	78	113	45	78	113
0	19,53	13,24	15,41	48,20	51,75	55,03
32	21,10	14,47	14,15	46,94	52,94	55,65
64	18,58	12,71	14,04	45,51	51,11	56,03
97	19,19	12,41	14,07	46,72	54,24	54,31
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Esta ausencia de respuesta a la fertilización nitrogenada edáfica, en el ensayo 1, probablemente se ha debido a una elevada acumulación de sustancias de reservas nitrogenadas a consecuencia de la avanzada edad de los árboles (20 años), sumado a que los requerimientos de N pudiesen estar sustancialmente cubiertos por la presencia de

NO₃⁻ en la solución del suelo. Hay que recordar que éste ensayo se llevó a cabo en una zona de alto riesgo por contaminación de NO₃⁻. Por otra parte, en el ensayo 2, aunque los árboles, de 5 años de edad, no habían recibido aportes inorgánicos de N hasta que iniciamos el ensayo, la ausencia de respuesta en las variables estudiadas pudo ser debida a que el abonado nitrogenado no produce efectos detectables a nivel de planta, como mínimo, hasta el tercer año de reiterar el tratamiento sobre los mismos árboles (Marsal *et al.*, 2005).

De forma similar, el contenido de almidón en hojas, en 2 fechas de muestreo, y en los frutos en la recolección, no reveló diferencias significativas por la fertilización nitrogenada edáfica (Tabla 45).

Tabla 45. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de almidón (mg g⁻¹MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en el momento de la recolección.

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Ensayo	Almidón		
		Hojas		Frutos
		120 DTPF	Recolección	Recolección
0	1	38,00	50,58	14,85
40		-	57,51	14,70
80		38,60	57,21	15,16
120		42,81	55,66	14,28
200		36,25	54,91	14,52
0	2	43,89	35,67	22,87
32		45,95	35,76	25,82
64		41,68	32,33	17,18
97		47,97	35,77	21,36

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Además de ello, la concentración de carbohidratos solubles totales no difirió significativamente entre los tratamientos nitrogenados edáficos. Sólo a nivel de frutos en la recolección, en el ensayo de 2006, la concentración de azúcares solubles totales ha sido significativamente ($P \leq 0,05$) inferior en el tratamiento de mayor dosis de N (200

UFN ha⁻¹ año⁻¹), en comparación al resto de los tratamientos, aunque similar al T2 (40 UFN ha⁻¹ año⁻¹) (Tabla 46).

En el ciclo de 2006 se observó que la concentración tanto de almidón como de carbohidratos solubles totales en hojas ha sido distinta entre los muestreos, siendo mayor para el momento de la recolección. Sin embargo, en el ensayo 2 se observó una respuesta inversa, es decir, en comparación al muestreo realizado a los 120 DTPF, hubo una disminución en la concentración de almidón y de azúcares solubles totales en las hojas en el momento de la recolección, lo que sugiere que para la fecha aún había algún sumidero activo.

Tabla 46. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración total de carbohidratos solubles (mg g⁻¹MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en el momento de la recolección.

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Ensayo	Carbohidratos solubles totales		
		Hojas		Frutos
		120 DTPF	Recolección	Recolección
0	1	125,16	144,87	644,08 a
40		130,91	135,96	597,18 ab
80		113,60	140,32	604,11 a
120		107,21	149,76	638,71 a
200		128,79	153,42	581,78 b
0	2	111,69	89,55	419,58
32		105,25	89,82	431,87
64		101,76	73,83	438,30
97		104,59	77,55	440,77

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

La menor concentración de azúcares solubles totales encontrada en los frutos en la recolección del ensayo 2, en comparación a los frutos del ensayo 1, (Tabla 46), pudo ser debida a diferencias en el estado de maduración de los frutos en el momento de la recolección, ya que como observamos en la Tabla 45, la concentración de almidón en los frutos de 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2) fue más alta que en el ensayo de

2006. En este sentido, Rease y Drake (1997) han manifestado que la mayor degradación del almidón revela un estado superior de maduración del fruto.

Al considerar, en hojas, la concentración los azúcares solubles por separado observamos, igualmente, ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Sólo la concentración de fructosa en la recolección, en el ensayo de 2007, decreció significativamente con las dosis más altas de N (Tabla 47).

Tabla 47. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) a los 120 DTPF y en la recolección.

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Sac	Glu	Fruc	Sor	Sac	Glu	Fruc	Sor
	120 DTPF				Recolección			
	Ensayo 1							
0	19,54	19,61	4,47	81,54	26,38	25,21	10,48	82,80
40	17,60	26,06	4,55	82,70	20,20	27,38	10,38	78,00
80	18,84	16,17	5,59	73,01	23,05	29,40	10,89	76,98
120	11,90	13,92	4,27	77,12	26,68	28,08	10,64	84,35
200	17,10	25,40	4,99	81,31	24,07	29,64	10,14	89,56
Ensayo 2								
0	23,38	12,03	4,06	72,21	24,07	9,04	3,60 a	52,83
32	24,54	10,30	5,46	64,95	22,35	9,92	3,73 a	53,81
64	23,02	10,27	4,43	64,04	18,33	7,80	2,35 b	45,34
97	22,42	12,40	3,76	66,01	20,39	6,41	3,31 ab	47,43

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

Sac: Sacarosa; Glu: Glucosa; Fruc: Fructosa; Sor: Sorbitol.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Por otra parte, se han detectado diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la concentración de algunos carbohidratos solubles a nivel de frutos en la recolección sólo en el ensayo de 2006. El contenido de sacarosa de los tratamientos 1 y 2 (0 y 40 UFN ha^{-1} año^{-1} , respectivamente) han resultado estadísticamente igual entre sí y a la vez superior al resto de los tratamientos, mientras que la fructosa del T2 fue

significativamente ($P \leq 0,05$) menor al resto de los tratamientos, aunque no diferente al tratamiento de mayor dosis ($200 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$) (Tabla 48) los resultados no muestran una respuesta concreta.

Tabla 48. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) en la recolección.

Tratamiento ($\text{UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$)	Ensayo	Azúcares solubles			
		Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
0	1	192,08 a	76,59	355,20 a	20,21
40		192,24 a	80,84	298,00 b	26,10
80		161,02 b	78,55	343,97 a	20,58
120		173,73 b	84,07	358,98 a	21,93
200		164,84 b	67,79	326,96 ab	22,19
0	2	130,98	60,14	205,58	22,88
32		134,47	64,31	209,70	23,38
64		138,84	66,14	210,15	23,17
97		139,30	66,13	210,62	24,72

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

En el ensayo de sobrefertilización (ensayo 3) la tasa de fotosíntesis resultó ser significativamente menor ($P \leq 0,05$) en los árboles tratados con la mayor dosis de N vía suelo, o por la aplicación vía foliar, en 2 de las 4 fechas de evaluación (Tabla 49). Por otra parte, las determinaciones de SPAD mostraron contenidos similares de clorofila, indistintamente del momento de evaluación y del tratamiento al que fueron sometidos los árboles (Tabla 49).

Tanto Masek *et al.* (2001) como Mitchell y Hinckley (1993) han demostrado la existencia de una elevada correlación entre el nivel de N-foliar y la tasa de fotosíntesis. Sin embargo, según nuestros resultados, aunque la sobrefertilización haya ocasionado que, sólo a los 107 DTPF, la concentración de N-foliar fuese mayor en los árboles sobrefertilizados (Figura 36; Pág. 241), la mayor actividad fotosintética la manifestaron

los árboles bajo menor aportación de N (Tb 32 UFN) (Tabla 49).

Tabla 49. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la tasa fotosintética y el contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 3).

Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Fotosíntesis (μmol CO ₂ m ⁻² s ⁻¹)				Clorofila (SPAD)			
	DTPF							
	47	78	109	130	47	78	109	130
32 (Tb)	20,97 a	19,73	20,72 a	18,93	49,8	40,3	54,0	53,8
Tb + 65 UFN edáfico	20,68 a	18,47	20,38 b	17,80	47,9	44,5	55,9	54,4
Tb + 87 UFN edáfico	19,12 b	19,25	18,34 c	20,66	47,4	45,6	53,2	51,9
Tb + 65 UFN foliar	18,62 b	19,35	18,72 bc	20,95	46,8	44,8	53,3	52,1
Significación	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

La tasa de fotosíntesis es proporcional, dentro de ciertos límites, a la concentración de clorofila foliar (Cayón *et al.*, 2001), pero, como ya hemos mencionado, en ninguna de las fechas de evaluación el nivel de clorofila difirió entre tratamientos. Por tanto, esta correlación, tal como señala Evans (1989), no siempre debe ser generalizada ya que puede variar por efectos del hábitat natural de la planta y por factores como la temperatura y la radiación.

El hecho de que la concentración de carbohidratos pueda influir en la expresión de genes que codifican componentes de la fotosíntesis (Koch, 1996), nos sugiere que el aumento significativo ($P \leq 0,05$) en las concentraciones de almidón observado en las hojas de los tratamientos de sobrefertilización edáfica (Tabla 50) pudo provocar la reducción de la tasa de fotosíntesis en comparación al control (32 UNF).

Tabla 50. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), en brotes en invierno y en frutos en la recolección (ensayo 3).

Tratamiento (UFN ha^{-1} año $^{-1}$)	Almidón			
	Hojas		Brotes	Frutos
	120 DTPF	Recolección	Invierno	Recolección
32 (Tb)	22,17 b	33,82 b	50,71	3,14
Tb + 65 UFN edáfico	32,17 a	41,68 a	48,40	3,11
Tb + 87 UFN edáfico	28,31 a	41,60 a	49,74	3,19
Tb + 65 UFN foliar	21,93 b	31,75 b	54,43	3,12

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

Por otra parte, la menor concentración de almidón en las hojas de los árboles sobrefertilizados foliarmente, posiblemente haya sido consecuencia de los efectos de toxicidad observados con este tratamientos sobre el tejido foliar (Figura 37; Pág 243), lo que pudo haber reducido la superficie foliar funcional y con ello la cantidad de CO_2 asimilado. No obstante, los árboles bajo la influencia de este tratamiento (Tb + 65 UFN foliar) alcanzaron mayor desarrollo de brotes en términos de longitud, sección de área basal, número de nudos y de peso seco (Tabla 36; Pág 154), lo que pudo haber ocasionado una demanda de energía más alta y, por ello, la baja concentración de almidón en hojas.

A diferencia del tejido foliar, la sobrefertilización nitrogenada no afectó significativamente la concentración de almidón en brotes y frutos (Tabla 50).

Al considerar la concentración los azúcares solubles tanto totales, como individuales (Tablas 51 y 52), respectivamente) encontramos que éstos no han sido afectados significativamente por los tratamientos de sobrefertilización. Además, de los carbohidratos analizados, el sorbitol ha sido el mayoritario en hojas, donde su concentración aumentó con el exceso de aporte de nitrógeno.

Tabla 51. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 3).

Tratamiento (UFN ha^{-1} año^{-1})	Carbohidratos solubles totales		
	Hojas		Frutos
	120 DTPF	Recolección	Recolección
32 (Tb)	88,43	100,28	715,04
Tb + 65 UFN edáfico	96,09	98,88	694,44
Tb + 87 UFN edáfico	96,55	93,43	704,41
Tb + 65 UFN foliar	93,16	109,42	730,65

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

Tabla 52. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de azúcares solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' a los 120 DTPF y en el momento de la recolección (ensayo 3).

Tratamiento (UFN ha^{-1} año^{-1})	Sac	Glu	Fruc	Sor	Sac	Glu	Fruc	Sor
	120 DTPF				Recolección			
32 (Tb)	17,82	10,08	4,08	56,46	27,87	13,64	4,61	54,16
Tb + 65 UFN edáfico	16,93	12,90	4,24	62,02	26,97	10,81	4,99	56,11
Tb + 87 UFN edáfico	17,89	10,79	4,33	63,54	27,91	9,44	4,21	51,86
Tb + 65 UFN foliar	11,76	13,48	4,29	63,64	23,94	13,17	6,07	66,24

Sac: Sacarosa; Glu: Glucosa; Fruc: Fructosa; Sor: Sorbitol.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

Como ya hemos señalado, el sorbitol seguido de la sacarosa son los principales carbohidratos de transporte producidos en el tejido foliar del manzano (Watari *et al.*, 2004), de los cuales, el sorbitol representa entre el 60 y el 80% del azúcar exportado desde las hojas (Webb y Burley, 1962), de ahí las altas concentraciones detectadas a nivel foliar.

En líneas generales, tanto el contenido de almidón como el de azúcares solubles totales en hojas aumentaron con el avance de la estación. Al respecto se ha señalado que en especies caducifolias la acumulación de carbohidratos comienza antes del término del crecimiento de brotes y alcanza su nivel máximo en otoño, coincidiendo con la caída de las hojas, período en que raíces y, en menor medida, madera de estructuras permanentes, constituyen un fuerte polo de atracción (Silva y Rodríguez, 1995).

A nivel de frutos, sólo la concentración de glucosa acusó significativamente ($P \leq 0,05$) el efecto de la sobrefertilización nitrogenada al ser superior en los árboles del T4 (Tb + 65 UFN ha⁻¹ año⁻¹, vía foliar) en comparación al resto de los tratamientos (Tabla 53). A diferencia de las hojas, en los frutos, la fructosa ha sido el azúcar mayoritario.

Tabla 53. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH₄NO₃) sobre la concentración de azúcares solubles (mg g⁻¹MS) en frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Azúcares solubles			
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
32 (Tb)	155,93	159,44 b	382,99	16,68
Tb + 65 UFN edáfico	154,00	155,16 b	367,61	17,67
Tb + 87 UFN edáfico	147,30	153,00 b	387,89	16,22
Tb + 65 UFN foliar	150,65	171,03 a	390,05	18,92

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: Tratamiento basal.

En el ensayo 5, ejecutado con la finalidad de evaluar la respuesta de los manzanos a la sobrefertilización nitrogenada tanto por vía edáfica como por vía foliar, utilizando como fuente nitrogenada el NH₄NO₃ y la urea (CO(NH₂)₂), encontramos que los aportes adicionales de N afectaron significativamente ($P \leq 0,05$) la tasa de fotosíntesis en sólo 1 de las 4 fechas de evaluación (Tabla 54).

Tabla 54. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la tasa fotosintética y los niveles de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 5).

Tratamientos	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				Clorofila (Spad)			
	DTPF							
	45	66	120	150	45	66	120	150
Aportes nitrogenados								
Tb	13,90	15,06	16,76	13,54	38,62	40,48	50,23	50,65
Aportes	15,55	17,34	18,16	14,67	42,78	44,03	52,55	51,07
Significación	ns	*	ns	ns	*	*	ns	ns
Formulación								
NH ₄ NO ₃	14,75	16,12	17,73	13,97	41,18	43,64	51,78	50,91
CO(NH ₂) ₂	16,36	18,55	18,59	15,37	44,39	44,43	53,34	51,23
Significación	ns	*	ns	ns	ns	*	ns	ns
Aplicación								
Edáfico	14,18	15,77	17,78	13,99	40,98	41,94	52,47	49,48
Foliar	16,93	18,91	18,53	15,35	44,58	46,13	52,65	52,68
Significación	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación								
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

DTPF: Días tras plena floración.

En este ensayo, en contradicción al ensayo de sobrefertilización realizado en 2007 (ensayo 3), la asimilación de CO_2 tendió a ser superior con el exceso de N. Por otra parte, el nivel de clorofilas, determinado en diferentes fechas a lo largo del ciclo vegetativo, indicó que las hojas reflejaron el efecto significativo ($P \leq 0,05$) del exceso de N sólo en las 2 primeras fechas de evaluación, al ser superiores los valores SPAD con los aportes adicionales de N. De igual forma que la tasa fotosintética, el exceso de aporte de N tendió a aumentar el nivel de clorofilas de manera general en las hojas (Tabla 54).

No se detectaron efectos significativos de la interacción entre la formulación y la vía de aplicación de los fertilizantes sobre la tasa fotosintética de los árboles, o sobre los niveles de clorofila. Sin embargo, a los 66 DTPF encontramos que la tasa de fotosíntesis y la concentración de clorofila fueron significativamente mayores ($P \leq 0,05$) en los árboles sobrefertilizados y, en estos, la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ causó un aumento en ambas variables. Por otra parte, el suministro foliar de fertilizantes incrementó ($P \leq 0,05$) tanto la tasa de fotosíntesis como los niveles de clorofilas en las 2 primeras fechas de medición (Tabla 54).

Si bien el exceso de fertilización nitrogenada no ha mostrado una respuesta categórica ni sobre la capacidad fotosintética foliar, ni sobre los niveles de clorofilas en las hojas de los árboles de los ensayos, estos resultados indican que la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, principalmente por vía foliar, tiende a aumentar la tasa de fotosíntesis y los niveles de clorofilas en comparación al NH_4NO_3 (Tabla 54). Esto quizás sea debido a que el N de la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ es asimilado con rapidez cuando es aplicado por vía foliar (Nicoulaud y Bloom, 1996), evitándose así pérdidas de energía al elaborar otros productos intermedios, lo que favorecería la fotosíntesis.

Por otro lado y de forma similar al ensayo 5, en el ensayo 6 se sobrefertilizó con N, aunque en este caso las dosis fueron menores.

En este ensayo, la evaluación de la tasa fotosintética ha mostrado, en semejanza al ensayo 5, un aumento con el exceso de N, aunque sólo hemos detectado diferencias significativas ($P \leq 0,05$) al finalizar el ciclo (159 DTPF) (Tabla 55). Sin embargo, los niveles de clorofila han sido significativamente superiores ($P \leq 0,05$) en los árboles sobrefertilizados en todas las fechas de evaluación (Tabla 55).

La interacción entre la formulación del abono nitrogenado y su forma de aplicación tampoco mostró efectos significativos. Al estudiar los factores por separado encontramos que, en analogía al ensayo 5, los resultados indican la mayor efectividad de las aplicaciones foliares sobre las edáficas, y de la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ sobre el NH_4NO_3 , en el aumento de la tasa de fotosíntesis y de los niveles de clorofila (Tabla 55).

Tabla 55. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la tasa fotosintética y los niveles de clorofilas en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 6).

Tratamientos	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			Clorofila (Spad)		
	DTPF					
	57	91	159	57	91	159
Aportes nitrogenados						
Tb	11,04	15,57	13,37	40,52	43,70	46,10
Aportes	12,54	16,56	15,45	44,51	47,89	53,13
Significación	ns	ns	*	*	*	*
Formulación						
NH_4NO_3	11,60	15,99	14,87	44,41	46,04	52,85
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	13,48	17,13	16,04	44,61	49,74	53,42
Significación	*	*	ns	ns	*	ns
Aplicación						
Edáfico	13,24	16,64	13,31	43,73	46,13	52,93
Foliar	11,84	16,48	17,60	45,29	49,65	53,33
Significación	ns	ns	*	ns	*	ns
Formulación x aplicación						
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

DTPF: Días tras plena floración.

Al considerar en conjunto la respuesta de los manzanos a la sobrefertilización nitrogenada (ensayos 3, 5 y 6) en función de la capacidad fotosintética y de los niveles de clorofila observamos claramente que tienden a aumentar con las aportaciones de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, así como con el suministro foliar de los fertilizantes nitrogenados. Sin embargo, la dimensión de la respuesta es dependiente del exceso de N aportado. Es decir, con aumentos en la dosis de N por encima del tope máximo legamente permitido en una zona declarada como vulnerable a la contaminación por NO_3^- , tanto la tasa de fotosíntesis como el contenido de clorofilas pueden aumentar (ensayos 5 y 6). Sin embargo, con un exceso severo de fertilización nitrogenada (ensayo 3) estos parámetros tienden a estar inhibidos.

Por otra parte, la fotosíntesis puede ser inhibida en condiciones de escasa demanda de los sumideros (Blanke, 2009), por lo que el aumento en el contenido de almidón detectado en las hojas de los árboles del ensayo 5 bajo la dosis basal (Tabla 56) sugiere ser la causa del descenso en la capacidad fotosintética foliar observada en los ensayos 5 y 6.

Tabla 56. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), en brotes en invierno y en frutos en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	Almidón			
	Hojas		Brotes	Frutos
	120 DTPF	Recolección	Invierno	Recolección
Aportes nitrogenados				
Tb	42,09	55,03	19,97	11,37
Aportes	38,37	52,61	21,40	13,72
Significación	*	ns	ns	ns
Formulación				
NH_4NO_3	36,86	51,20	22,08	10,61
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	39,87	54,01	20,72	16,83
Significación	*	ns	ns	*
Aplicación				
Edáfico	39,30	53,99	21,48	14,21
Foliar	37,44	51,22	21,65	13,24
Significación	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación				
Significación	ns	ns	*	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

DTPF: Días tras plena floración.

En los brotes muestreados en invierno, y en frutos en el momento de la recolección, la concentración de almidón no difirió significativamente entre tratamientos. Sin embargo, ésta tendió a ser superior con el exceso de fertilización nitrogenada, lo que sustenta la menor acumulación de almidón en las hojas (Tabla 56) y el aumento en el uso de los carbohidratos para la asimilación del N.

Tanto a nivel foliar como de frutos en la recolección no se detectaron efectos de interacción entre la formulación y la vía de suministro de los fertilizantes sobre el nivel de almidón. Sin embargo, al analizar los factores por separado encontramos que la concentración aumentó con la aportación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, aunque sólo significativamente ($P \leq 0,05$) en hoja de 120 DTPF y en frutos. La forma de suministro no indujo diferencias significativas en la concentración de almidón (Tabla 56).

Curiosamente, a pesar de no detectarse diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos para la concentración de almidón en brotes, los resultados indican efecto de interacción entre los factores formulación y vía de aplicación (Tabla 56). Al analizar dicho efecto hemos observado que, la adición de NH_4NO_3 vía foliar a lo largo del ciclo vegetativo, causa consecuencias opuestas sobre el nivel de almidón en comparación al suministro edáfico, mientras que la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, a pesar de mostrarse inferior al NH_4NO_3 , bajo aplicación edáfica, revela un comportamiento contrario, es decir su adición vía foliar tiende a aumentar la concentración (Figura 17).

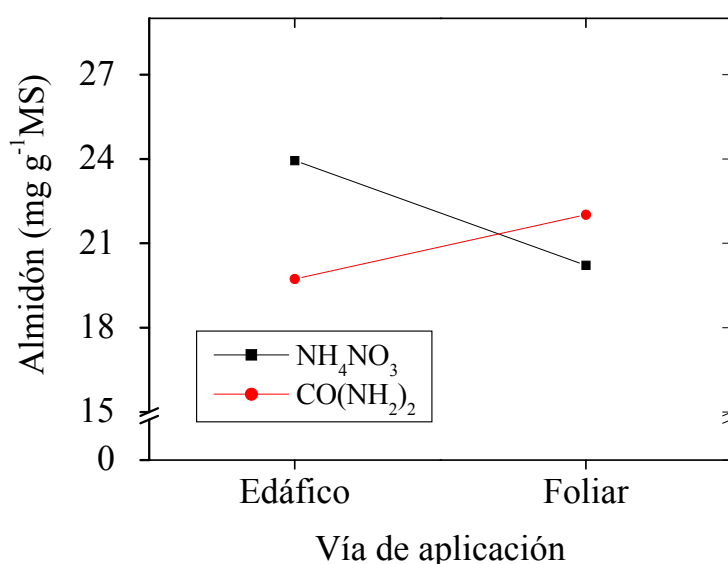


Figura 17. Interacción formulación x vía de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre concentración de almidón en brotes de manzanos 'Golden Reinders' recolectados en invierno (ensayo 5).

De los análisis realizados para evaluar el efecto de la sobrefertilización nitrogenada (ensayo 5) sobre la concentración de carbohidratos solubles, hemos encontrado que el único de los factores que influyó, desde el punto de vista estadístico, sobre el nivel azúcares totales fue la vía de aplicación, aunque sólo a nivel de frutos, siendo significativamente ($P \leq 0,05$) superior la aportación edáfica en comparación a la foliar (Tabla 57).

Tabla 57. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	Carbohidratos solubles totales		
	Hojas		Frutos
	120 DTPF	Recolección	Recolección
Aportes nitrogenados			
Tb	110,94	119,11	658,09
Aportes	116,97	120,45	647,85
Significación	ns	ns	ns
Formulación			
NH_4NO_3	117,24	117,92	642,11
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	116,70	122,97	653,58
Significación	ns	ns	ns
Aplicación			
Edáfico	115,58	120,49	670,87
Foliar	118,36	120,41	624,82
Significación	ns	ns	*
Formulación x aplicación			
Significación	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

DTPF: Días tras plena floración.

De los azúcares solubles individuales en hoja, sólo la glucosa difirió significativamente ($P \leq 0,05$) al ser superior su concentración con el aporte nitrogenado en el momento de la recolección (Tabla 58).

Tabla 58. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de azúcares solubles en hojas ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) de manzanos 'Golden reinders' a los 120 DTPF y en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	Sac	Glu	Fruc	Sor	Sac	Glu	Fruc	Sor
	120 DTPF				Recolección			
Aportes nitrogenados								
Tb	22,01	10,36	4,24	74,33	30,38	12,05	7,95	68,73
Aportes	21,88	11,55	4,62	78,92	30,36	15,50	8,31	66,27
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns	ns
Formulación								
NH ₄ NO ₃	23,37	11,12	4,58	78,17	28,23	14,53	8,47	66,69
CO(NH ₂) ₂	20,38	11,98	4,66	79,67	32,49	16,46	8,16	65,85
Significación	*	ns	ns	ns	*	*	ns	ns
Aplicación								
Edáfico	22,12	11,26	4,48	77,74	30,87	15,46	8,30	65,86
Foliar	21,64	11,84	4,77	80,11	29,86	15,54	8,33	66,68
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación								
Significación	ns	ns	ns	ns	*	*	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Sac: Sacarosa; Glu: Glucosa; Fruc: Fructosa; Sor: Sorbitol

Tb: Dosis basal.

DTPF: Días tras plena floración.

Únicamente la glucosa y la sacarosa han manifestado efecto de interacción ($P \leq 0,05$) entre los factores formulación y vía de aplicación, aunque sólo en recolección (Tabla 58). Al analizar los factores formulación y vía de aplicación por separado hemos observado que la concentración de los carbohidratos en las hojas no varía por la forma

en que se suministra la sobrefertilización nitrogenada. Sin embargo, pese a que con la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ se logra aumentar la concentración de la mayoría de los azúcares, sólo hemos detectado diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en la sacarosa a los 120 DTPF y en la recolección y en la glucosa, en la recolección (Tabla 58).

Al analizar la interacción observamos en la Figura 18 que la sobrefertilización con NH_4NO_3 por vía foliar permite a las hojas acumular mayor concentración de sacarosa y glucosa. Mientras que la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ a pesar de mostrarse superior al NH_4NO_3 bajo aplicación edáfica, revela un comportamiento totalmente contrario al agregársele a la hojas, es decir su adición vía foliar disminuye la concentración de ambos azúcares.

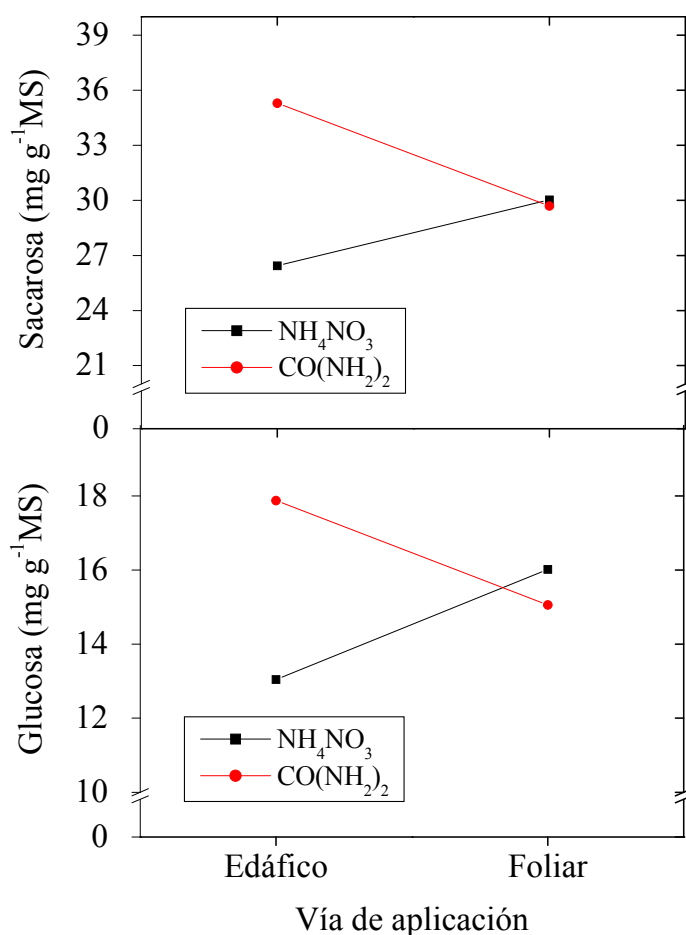


Figura 18. Interacción formulación x vía de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre concentración de sacarosa y glucosa en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).

A nivel de fruto, la sobrefertilización nitrogenada tuvo poca influencia sobre la concentración de los azúcares solubles individuales, al no detectarse efecto significativo de interacción, ni efecto del exceso de abonado (Tabla 59). Sólo el nivel de sacarosa resultó ser significativamente ($P \leq 0,05$) superior al sobrefertilizarse con $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, tendencia que también ha manifestado la fructosa y el sorbitol. Por otra parte, aunque todos los azúcares solubles manifestaron un aumento al aplicar el exceso del nitrogenado por vía edáfica, solo la glucosa difirió significativamente ($P \leq 0,05$) (Tabla 59).

Tabla 59. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de azúcares solubles en frutos ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	Azúcares solubles			
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
Aportes nitrogenados				
Tb	176,04	95,53	369,42	17,10
Aportes	169,27	92,99	368,19	17,39
Significación	ns	ns	ns	ns
Formulación				
NH_4NO_3	164,36	93,15	367,95	16,65
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	174,18	92,84	368,43	18,13
Significación	*	ns	ns	ns
Aplicación				
Edáfico	171,01	106,76	374,27	18,83
Foliar	167,53	79,23	362,12	15,94
Significación	ns	*	ns	ns
Formulación x aplicación				
Significación	ns	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

En líneas generales, de los ensayos de sobrefertilización nitrogenada (ensayos 3, 5 y 6) se desprende que aunque la capacidad fotosintética tiende a aumentar, hasta cierto punto, con el exceso de abono nitrogenado, los cambios observados en la disponibilidad de carbohidratos no son lo suficientemente categóricos para justificar la utilización de N en cantidades superiores a las permitidas para la zona donde se realizó éste estudio.

En el ensayo 4, el hecho de que la plantación de manzanos no hubiese recibido aportes inorgánicos de N en los últimos 6 años, permitió estudiar el efecto de las dosis bajas del fertilizante nitrogenado y comprobar la respuesta de los árboles a la vía y formulación del abono nitrogenado.

En este ensayo, la capacidad fotosintética de las hojas aumentó con el suministro de N independientemente de la forma de aplicación, aunque sólo se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) a los 71 y 130 DTPF (Tabla 60). Por otra parte, los niveles de clorofila, medidos en 2 fechas del período vegetativo, mostraron valores similares (Tabla 60).

Tabla 60. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la tasa de fotosíntesis y contenido de clorofilas en hojas de árboles de manzano 'Smoother Golden Delicious' en diferentes fechas tras la floración (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			Clorofila (Spad)	
	DTPF				
	43	71	130	43	71
0 UFN	12,29	13,07 b	12,75 b	43,61	45,34
32 UFN NH ₄ NO ₃ edáfico	13,88	15,34 ab	16,17 a	43,26	43,89
32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	12,85	16,96 a	15,40 a	45,58	46,96
32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	14,83	18,40 a	15,10 a	43,36	49,08
Significación	ns	*	*	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Bajo condiciones limitantes de N, el proceso fotosintético muestra una regulación descendente concomitante con disminuciones de la rubisco y clorofila (Field

y Mooney, 1986), razón por la cual al ser la concentración foliar de N baja, la asimilación neta de CO₂ aumenta al adicionarse este elemento (Syvertsen, 1987; Evans, 1989). La ausencia de diferencias en los niveles de clorofila hace pensar que es más probable que el aumento en la tasa de fotosíntesis con la adición de N sea consecuencia de una mayor actividad de la rubisco y de otras enzimas del ciclo de Calvin (Cheng y Cheng, 2004; Cheng y Fuchigami, 2000).

Esta regulación de la fotosíntesis en el manzano desarrollado a dosis bajas de N generalmente se manifiesta con un menor crecimiento vegetativo, menor área foliar y menor capacidad para asimilar CO₂ (Xia *et al.*, 2009), indicando que la capacidad de suministro de carbono de los órganos que lo generan al resto de sumideros es menor respecto a los árboles que se han desarrollado bajo un suministro adecuado de N.

Quizás por esta razón, al evaluar la influencia de los aportes nitrogenados, a dosis bajas, sobre la concentración foliar de almidón encontramos que aunque sólo hubo efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos en el momento de la recolección, el nivel de almidón tendió a ser superior con el aporte nitrogenado foliar (Tabla 61).

Tabla 61. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de almidón (mg g⁻¹MS) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección), brotes en invierno y frutos en la recolección (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Almidón			
	Hojas		Brotes	Frutos
	120 DTPF	Recolección	Invierno	Recolección
0 UFN	29,06	41,32 b	13,64	6,88
32 UNF NH₄NO₃ edáfico	29,21	42,27 b	14,43	6,66
32 UFN NH₄NO₃ foliar	30,80	44,88 ab	18,87	7,50
32 UFN CO(NH₂)₂ foliar	33,86	47,89 a	15,08	7,86

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

También se puede apreciar que para el resto de observaciones no se detectaron diferencias significativas aunque en los brotes, el contenido de reservas en forma de almidón, tendió a aumentar con la adición de N (Tabla 61).

La mayor concentración de carbohidratos solubles totales detectados a nivel foliar en las 2 fechas de evaluación, aunque no difirieron significativamente (Tabla 62), indica que la tasa fotosintética y, por tanto, la acumulación de biomasa debe depender de la disponibilidad de N. Sin embargo, esta dependencia no es lineal ya que como hemos visto en los ensayos de sobrefertilización, en las condiciones del valle del Ebro, los manzanos no responden concluyentemente a las aportaciones de N, independientemente del nivel de los tratamientos, de la formulación o de la vía de aplicación del fertilizante, debido a que probablemente sus requerimientos de N están en gran parte cubiertos por las acumulaciones de N-mineral de los años precedentes o por la alta contaminación por NO_3^- del agua de riego por los niveles de reserva del árbol.

Tabla 62. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración total de carbohidratos solubles ($\text{mg g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' analizadas en 2 fechas (120 DTPF y recolección) y en frutos en la recolección (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha^{-1} año $^{-1}$)	Carbohidratos solubles totales		
	Hojas		Frutos
	120 DTPF	Recolección	Recolección
0 UFN	97,90	111,13	672,33 b
32 UFN NH_4NO_3 edáfico	100,68	121,83	690,79 b
32 UFN NH_4NO_3 foliar	107,22	120,83	699,26 ab
32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar	106,49	121,39	726,23 a

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Adicionalmente, al evaluar los azúcares solubles individualmente en la hoja encontramos que los tratamientos nitrogenados no afectaron significativamente su concentración independientemente de la fecha de muestreo, aunque manifestaron la tendencia a aumentar con la aportación del fertilizante, principalmente bajo la forma de suministro foliar (Tabla 63).

Tabla 63. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de azúcares solubles (mg g⁻¹MS) en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' a los 120 DTPF y en la recolección (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Sac*	Glu	Fruc	Sor	Sac	Glu	Fruc	Sor
	120 DTPF				Recolección			
0 UFN	16,23	9,89	4,04	67,74	23,83	16,31	4,48	66,51
32 UFN NH ₄ NO ₃ edáfico	16,97	10,72	4,38	68,62	24,84	17,69	5,69	73,62
32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	19,05	12,92	5,48	69,78	23,71	17,90	5,28	73,93
32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	17,85	10,86	4,67	73,10	25,51	17,00	5,45	73,43

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Sac: Sacarosa; Glu: Glucosa; Fruc: Fructosa; Sor: Sorbitol.

DTPF: Días tras plena floración.

A nivel fruto, tampoco los tratamientos nitrogenados afectaron significativamente la concentración de los azúcares separados por HPLC en el momento de la recolección (Tabla 64). No obstante, los resultados podrían indicar que el suministro de N al cultivo induce aumentos en la concentración de estos carbohidratos.

Tabla 64. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de azúcares solubles (mg g⁻¹MS) en frutos de manzano 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Azúcares solubles			
	Sacarosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
0 UFN	138,22	150,71	362,36	21,04
32 UFN NH ₄ NO ₃ edáfico	137,75	159,03	372,24	21,79
32 UFN NH ₄ NO ₃ foliar	143,13	153,66	380,78	21,70
32 UFN CO(NH ₂) ₂ foliar	157,09	167,31	378,95	22,88

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

En el ensayo realizado en la EEAD sobre árboles plantados en contenedores (ensayo 7), aunque no hubo efecto significativo de la interacción, observamos, un claro aumento de la tasa de fotosíntesis con el incremento de la dosis del abonado. Además, encontramos que la CO(NH₂)₂ es básicamente la responsable del aumento detectado en los niveles de foliares clorofila, que fue significativamente ($P \leq 0,05$) superior en 2 de los

3 muestreos realizados (Tabla 65).

Es necesario mencionar que las aplicaciones foliares de NH_4NO_3 cuya concentración superó los 23 mg mL^{-1} , causaron severos daños en las hojas por fitotoxicidad, tal como observamos en la Figura 19. Por este motivo, hemos prescindido de los tratamientos de mayor dosis (20 y $30 \text{ g de N planta}^{-1}$), por lo que el total de tratamientos estudiados en este ensayo se organizaron en un diseño factorial 2×3 comparados con un control no abonado.

Tabla 65. Efecto de la fertilización nitrogenada foliar sobre la tasa de fotosíntesis y contenido de clorofilas en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en diferentes fechas (ensayo 7).

Tratamientos	Fotosíntesis ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			Clorofila (Spad)		
	DTPF					
	54	70	85	54	70	85
Aportes nitrogenados						
Control	12,41	10,13	10,25	30,08	35,05	36,61
Aportes	14,41	10,21	10,74	34,68	34,27	38,56
Significación	ns	ns	ns	*	ns	*
Formulación						
NH ₄ NO ₃	13,29	10,20	10,68	32,97	33,96	37,51
CO(NH ₂) ₂	15,52	10,22	10,80	36,39	34,56	39,60
Significación	ns	ns	ns	*	ns	*
Dosis (g de N planta ⁻¹)						
2	12,07 c	9,38 b	10,15 b	33,15	34,05	36,49 c
4	14,50 b	9,41 b	10,06 b	34,85	33,90	38,81 b
12	16,64 a	11,83 a	11,99 a	36,03	34,83	40,35 a
Significación	*	*	*	ns	ns	*
Formulación x dosis						
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración.

En general, los resultados obtenidos en los ensayos de fertilización nitrogenada reflejan que el aporte de N tiene un efecto promotor de la fotosíntesis en manzanos, lo que elevaría hasta cierto punto la disponibilidad de carbohidratos para los sumideros. Sin embargo, la respuesta parece ser dependiente de la edad de las plantas y de su historial de fertilización. Además, bajo las condiciones de estudio la concentración de carbohidratos solubles y de almidón no parece depender, a corto plazo, de las dosis de abono nitrogenado.

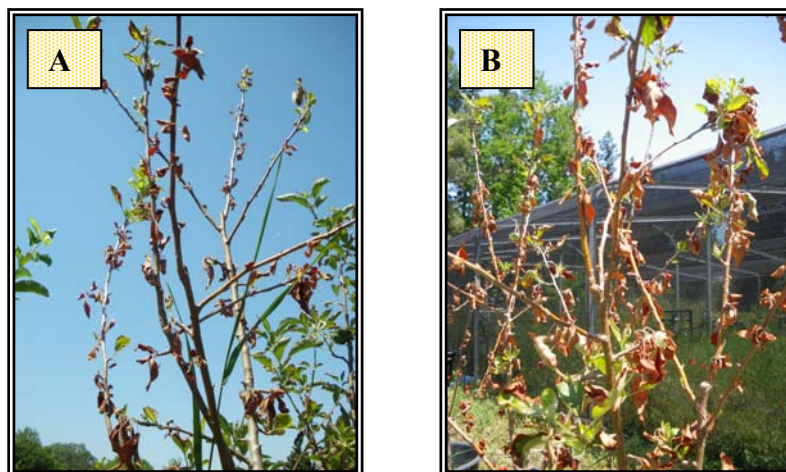


Figura 19. Árboles de manzano ‘Smoothie Golden Delicious’ bajo la influencia del suministro foliar de NH_4NO_3 (A: tratamiento 4; B: tratamiento 5).

Crecimiento de frutos.

Al evaluar la evolución del crecimiento de frutos, en términos de calibre, de los manzanos ‘Golden Reinders’ y ‘Smoothie Golden Delicious’ tratados por vía edáfica con diferentes dosis de N a lo largo de su período de desarrollo (ensayos 1 y 2), hemos observado que los datos obtenidos se han ajustado a curvas sigmoideas simples ($P \leq 0,001$), según el método matemático descrito por Blanco-Braña y Jackson (1982) (Figura 20).

Las ecuaciones logísticas obtenidas para el crecimiento de frutos con sus correspondientes coeficientes de determinación (r^2) se detallan en la Tabla 66. En todos los casos, el estadístico r^2 nos indica que el modelo calculado es capaz de explicar, en el peor de los casos, el 95,7 % de la variabilidad del crecimiento de los frutos en términos de calibre. Esta bondad de ajuste nos permite comparar, con fiabilidad, la evolución del crecimiento de frutos a partir de los parámetros calculados de las curvas de crecimiento expuestas en la Figura 20.

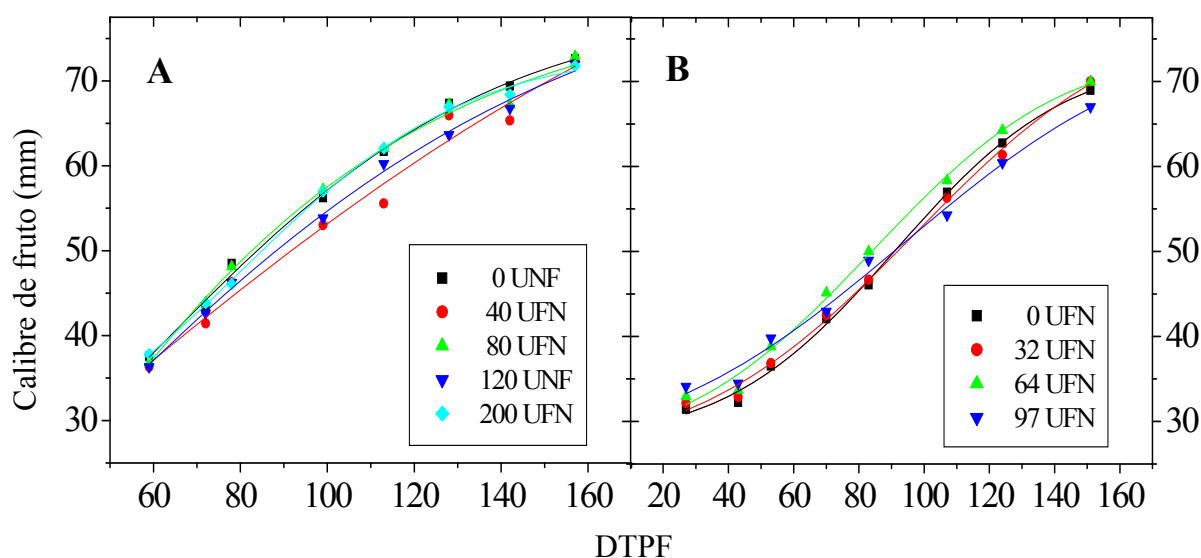


Figura 20. Curvas de crecimiento de frutos de manzano afectados por la fertilización nitrogenada (A: ensayo 1; B: ensayo 2).

Así mismo, en la Tabla 67 se presentan los parámetros de crecimiento que se han obtenido, para ambos ensayos. Como podemos observar, los análisis estadísticos revelaron que, independientemente de la variedad evaluada y de la zona de cultivo donde se realizaron los ensayos, no existen diferencias significativas atribuibles a los tratamientos nitrogenados aplicados.

De manera general, se ha señalado que la fertilización nitrogenada tiene un efecto notable sobre el tamaño de los frutos, al ser estos considerados como fuertes sumideros (Faust, 1989). Al respecto Xia *et al.* (2009), han manifestado que el manzano, en condiciones de bajo suministro de N, generalmente tiene un menor desarrollo vegetativo, menor área foliar y menor capacidad de asimilación de CO₂, indicando que la capacidad de suministro de carbono desde las hojas hacia los frutos es menor en comparación con los árboles que han crecido bajo suministro adecuado de N, lo que afecta indudablemente el tamaño final de los frutos. Sin embargo, en nuestros ensayos al igual que lo descrito por Neilsen *et al.* (2001b), Drake *et al.* (2002), Cmelik *et al.* (2006) y Neilsen *et al.* (2009) la disponibilidad de N, no afectó el tamaño de los frutos.

Tabla 66. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados vía edáfica.

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Ecuación	Coefficiente de determinación
Ensayo 1		
0	$Y = \frac{76,849}{1 + e^{-0,02777 * (x-61,10)}}$	$r^2 = 98,2251$
40	$Y = \frac{78,328}{1 + e^{-0,02273 * (x-65,05)}}$	$r^2 = 98,1698$
80	$Y = \frac{73,011}{1 + e^{-0,03259 * (x-58,35)}}$	$r^2 = 99,0983$
120	$Y = \frac{73,364}{1 + e^{-0,03184 * (x-59,61)}}$	$r^2 = 99,0208$
200	$Y = \frac{77,064}{1 + e^{-0,02769 * (x-61,58)}}$	$r^2 = 95,7104$
Ensayo 2		
0	$Y = \frac{79,036}{1 + e^{-0,01853 * (x-59,51)}}$	$r^2 = 97,8492$
32	$Y = \frac{76,017}{1 + e^{-0,01834 * (x-53,72)}}$	$r^2 = 97,9559$
64	$Y = \frac{77,969}{1 + e^{-0,01939 * (x-51,58)}}$	$r^2 = 98,3057$
97	$Y = \frac{79,339}{1 + e^{-0,01939 * (x-53,81)}}$	$r^2 = 97,2722$

Y: Calibre del fruto en mm.

X: Tiempo en días.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tabla 67. Parámetros de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) bajo la influencia de la fertilización nitrogenada edáfica.

Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Parámetros de crecimiento		
	C (mm)	M (DTPF)	m (mm/día)
Ensayo 1			
0	76,8	61,1	0,53
40	78,3	65,1	0,44
80	73,0	58,4	0,60
120	73,4	59,6	0,58
200	77,1	61,6	0,53
Significación	ns	ns	ns
Ensayo 2			
0	79,0	59,5	0,37
32	76,0	53,7	0,35
64	78,0	51,6	0,38
97	79,3	53,8	0,31
Significación	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno

C: Calibre final del fruto.

M: DTPF en los que ocurre 'm'.

m: Máxima razón de crecimiento.

DTPF: Días tras plena floración.

Por otra parte, hemos evaluado, igualmente, el efecto del exceso de nitrógeno sobre el tamaño de fruto en el momento de la recolección (ensayo 3) y nuestros resultados, al igual que lo descrito por distintos autores (Fallai *et al.*, 2001; Nava *et al.*, 2008), no han manifestado efecto significativo del aporte nitrogenado (Tabla 68).

Al respecto, Xia *et al.* (2009) han descrito que la carencia de respuestas significativas del tamaño de fruto a las aplicaciones en campo de N puede plantearse desde 2 puntos de vista. En primer lugar, el estatus de N de los árboles no es limitante

para el crecimiento de las frutas y, por tanto, el aumento en el suministro de N no afecta de manera significativa su calibre. En segundo lugar, el estatus de N del árbol es limitante pero la elevada carga de cosecha de los árboles puede anular el efecto del aumento de la aplicación de N sobre el tamaño final de fruto. En nuestros ensayos, los resultados apuntan a que, independientemente de la vulnerabilidad de la zona donde se desarrollaron los ensayos, a la contaminación por NO_3^- y de las aportaciones previas de N que pudiesen haber recibido los árboles antes de iniciarse los estudios, la ausencia de diferencias significativas entre el tamaño final de fruto hayan sido debidas a que el estado de N de los árboles, considerando el rango de suficiencia propuesto por Gagnard (1984), no fue en ningún momento limitante, independientemente del nivel de N aplicado.

Tabla 68. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre el calibre y proporción de materia seca acumulada por los frutos de manzano 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).

Tratamientos UFN ha^{-1} año $^{-1}$	Calibre (mm)	Materia seca (%)
32 (Tb)	74,0	13,9
Tb + 65 edáfico	76,3	13,9
Tb + 87 edáfico	75,3	13,7
Tb + 65 foliar	76,4	14,3
Significación	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UNF: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: tratamiento basal.

En el ensayo de sobrefertilización (ensayo 3), la evolución del crecimiento en calibre de los frutos se ajustó igualmente a curvas de tipo sigmoideo simple (Figura 21), lo cual es el resultado principalmente de una división celular exponencial, ocurrida entre las primeras 4 a 6 semanas tras la plena floración y posterior expansión celular durante el resto del período de crecimiento de la fruta (Al-Hinai y Roper, 2004; Lakso *et al.*, 1995).

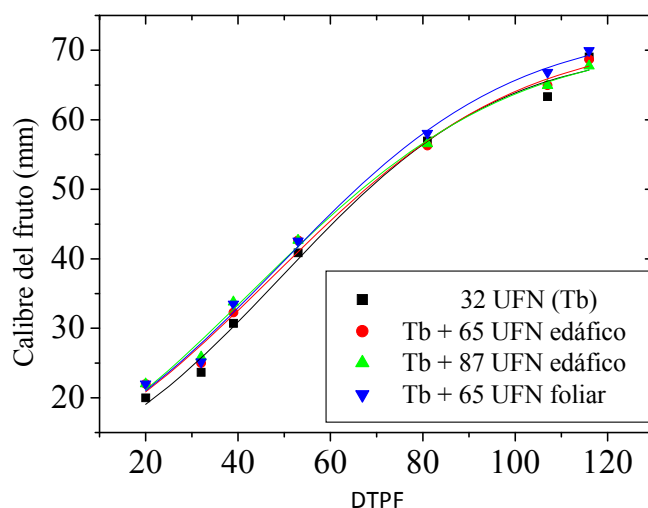


Figura 21. Curvas de crecimiento de frutos de manzanos afectados por sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3).

De forma similar a los ensayos 1 y 2, el estadístico r^2 ha indicado que el modelo calculado es capaz de explicar entre 97,5 y 99,1 % de la variabilidad del crecimiento de los frutos en términos de calibre (Tabla 69). Esta bondad de ajuste nos permite comparar, con fiabilidad, la evolución del crecimiento de los frutos a partir de los parámetros calculados de las curvas de crecimiento expuestas en la Figura 21.

Tabla 69. Ecuaciones logísticas de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' bajo sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3).

Nitrógeno (UFN ha^{-1} año^{-1})	Ecuación	Coefficiente de determinación
32 UFN (Tb)	$Y = \frac{76,931}{1 + e^{-0,03502 * (x-51,96)}}$	$r^2 = 98,3196$
Tb + 65 UFN edáfico	$Y = \frac{80,494}{1 + e^{-0,03042 * (x-53,80)}}$	$r^2 = 98,5038$
Tb + 87 UFN edáfico	$Y = \frac{81,409}{1 + e^{-0,02847 * (x-53,60)}}$	$r^2 = 97,5181$
Tb + 65 UFN foliar	$Y = \frac{79,411}{1 + e^{-0,03271 * (x-51,13)}}$	$r^2 = 99,0506$

Y: Calibre del fruto en mm.

x: Tiempo en días.

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: Tratamiento basal.

Por otra parte, los análisis estadísticos realizados sobre los distintos parámetros obtenidos a partir de las ecuaciones sigmoideas (Tabla 70) confirman la ausencia de diferencias significativas en el calibre final de los frutos señalada anteriormente (Tabla 68). Sin embargo, observamos que la sobrefertilización nitrogenada tiende a aumentar ligeramente el crecimiento máximo que pueden alcanzar los frutos en términos de calibre (Tabla 70). Es de resaltar que aunque la sobrefertilización tiende a producir frutos de mayores dimensiones en términos de calibre, no acelera su crecimiento.

Tabla 70. Parámetros de crecimiento de frutos de manzanos 'Golden Reinders' bajo la influencia de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) (ensayo 3).

Tratamientos UFN ha^{-1} año $^{-1}$	Parámetros de crecimiento		
	C (mm)	M (DTPF)	m (mm/día)
32 (Tb)	76,93	51,96	0,672
Tb + 65 UFN edáfico	80,49	53,80	0,610
Tb + 87 UFN edáfico	81,41	53,50	0,579
Tb + 65 UFN foliar	79,41	51,13	0,649
Significación	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

C: Calibre final del fruto.

M: DTPF en los que ocurre 'm'.

m: Máxima razón de crecimiento.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Tratamiento basal.

Tanto el ensayo 2 como el ensayo 4 han sido ejecutados sobre árboles de más de 5 años sin recibir aportes nitrogenados previos por fertilización y, aunque el crecimiento de los frutos no ha sido afectado significativamente en el ensayo 2 por el suministro de N, como ya ha sido descrito, los resultados del ensayo 4 han mostrado que, efectivamente, es posible aumentar el calibre del fruto con la fertilización nitrogenada (Tabla 71), tal como lo manifiesta Xia *et al.* (2009). Sin embargo, los árboles no parecen responder, según los resultados del ensayo 2 y los del T2 (32 UFN ha^{-1} año $^{-1}$) del ensayo 4, a la fertilización edáfica, cuando menos el primer año de tratamiento.

En este sentido, observamos en la Tabla 71 que sólo la fertilización foliar produjo significativamente ($P \leq 0,05$) frutos de mayor dimensión en términos de calibre,

en comparación a la vía de suministro edáfica y, aunque el tamaño de fruto de los árboles fertilizados foliarmente no difirió significativamente entre ellos, parece ser que éstos responden más a la adición de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. En todo caso, con el ensayo 4 se demuestra el efecto positivo de la fertilización de N sobre el crecimiento de los frutos.

Tabla 71. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre el calibre de frutos de manzano 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).

	Tratamiento (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)				Significación
	0 UFN	32 UFN NH_4NO_3 Edáfico	32 UFN NH_4NO_3 Foliar	32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ Foliar	
Calibre (mm)	54,9 b	57,9 b	61,2 ab	64,9 a	*

En la fila, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

En conjunto, podemos extraer de estos ensayo que, a pesar de que el N es considerado como un elemento promotor del crecimiento vegetativo y del tamaño de los frutos en el manzano (Stiles, 1994), la sobrefertilización nitrogenada no afecta de manera significativa el calibre de los frutos, por lo que las aplicaciones de N por encima de los requerimientos máximos de los árboles no son justificables.

Parámetros de producción.

En recolección, los parámetros de producción de los árboles de los ensayos 1 y 2 no se vieron condicionados por los tratamientos de fertilización nitrogenada edáfica (Tablas 72 y 73, respectivamente).

Es preciso resaltar que el número de frutos producidos por árbol, en el ensayo 1, manifestó gran variabilidad, posiblemente como consecuencia de un inadecuado aclareo practicado a los mismos. Tal variabilidad, pudo haber contribuido a que los efectos de los tratamientos no fueran estadísticamente significativos. Por otro lado, la escasa producción obtenida en los árboles del ensayo 2 ha sido consecuencia de la pequeña cantidad de frutos producida por árbol y, por tanto, la ligera carga de cosecha de los árboles pudo anular el efecto del aumento en las dosis de N sobre los parámetros de rendimiento.

Tabla 72. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1).

Tratamientos UFN ha ⁻¹ año ⁻¹	Nº frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
0	139	24,9	178,3	301,5	1,7
40	263	39,9	158,1	439,2	2,9
80	185	30,5	168,9	300,3	1,8
120	228	33,3	157,5	355,5	2,4
200	175	28,6	170,7	342,5	2,1
Significación	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

STAT: Sección transversal de área de tronco.

Tabla 73. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la producción de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' (ensayo 2).

Tratamientos UFN ha ⁻¹ año ⁻¹	Nº frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
0	62	8,74	144,45	346,76	2,39
32	63	8,58	135,54	290,51	2,12
64	59	8,46	151,17	269,66	1,89
97	77	9,40	133,60	281,85	2,21
Significación	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

STAT: Sección transversal de área de tronco.

En la plantación del ensayo 4, cuyo manejo nutricional permitió evaluar el efecto de las dosis bajas de N, encontramos que, aunque los árboles no tuvieron una floración abundante, el peso de los frutos aumentó significativamente ($P \leq 0,05$) con el aporte nitrogenado. Sin embargo, el número de frutos por árbol, la producción, la productividad y la carga de cosecha no mostraron diferencias significativas (Tabla 74) lo que indica uniformidad en el aclareo.

Tabla 74. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la producción de manzanos 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 4).

Tratamiento UFN ha ⁻¹ año ⁻¹	Nº frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
0	57	4,1	71,7 b	127,9	1,8
32NH ₄ NO ₃ edáfico	60	5,2	86,1 ab	160,7	1,9
32 NH ₄ NO ₃ foliar	50	5,5	111,9 a	195,8	1,7
32 CO(NH ₂) ₂ foliar	51	5,9	118,2 a	204,3	1,8
Significación	ns	ns	*	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

STAT: Sección transversal de área de tronco.

Observamos además que, el peso de los frutos en la recolección de los árboles bajo aporte de nitrógeno tendió a mostrar un aumento cuando se administró el fertilizante por vía foliar, en comparación a la vía edáfica. El resto de los parámetros evaluados no manifestaron diferencias significativas debidas a los tratamientos, aunque se observa que el aporte de nitrógeno, principalmente el foliar, indujo cierto aumento de la productividad (Tabla 74).

En este ensayo, la capacidad fotosintética de las hojas aumentó con el suministro de N (Tabla 60; Pág. 181), lo que posiblemente haya aumentado la capacidad de suministro de carbono de los órganos fuentes a los frutos, en comparación a los árboles que se han desarrollado bajo carencia de N. Al respecto, se ha mencionado que el crecimiento y desarrollo del fruto de manzano es dependiente del suministro de carbohidratos desde las hojas, lo cual está estrechamente relacionado con el suministro de N (Xía *et al.*, 2009).

Al analizar el efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre los parámetros de cosecha (ensayo 3), los resultados demuestran que, desde el punto de vista estadístico, el número de frutos cosechados, la producción y el peso fresco medio del fruto no manifestaron efectos significativos de los tratamientos (Tabla 75) Sin embargo, al evaluar estos parámetros en función del tamaño de los árboles, tanto la productividad

como la carga de cosecha han sido significativamente ($P \leq 0,05$) menores en los árboles a los que se adicionó el exceso de N por vía foliar. Esto indicaría una mayor caída precosecha de frutos en comparación con el resto de tratamientos, posiblemente como resultado de los daños severos de fitotoxicidad inducidos por este tratamiento (Tb + 65 UFN foliar).

Tabla 75. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la producción de árboles de manzano 'Golden Reinders' (ensayo 3).

Tratamiento UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$	Nº frutos árbol $^{-1}$	Producción (kg árbol $^{-1}$)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm^{-2} STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm^{-2} STAT)
32 (Tb)	169	29,8	175,9	1333,8 a	7,6 a
Tb + 65 UFN edáfico	162	30,0	185,7	1216,6 a	6,6 a
Tb + 87 UFN edáfico	172	30,4	176,1	1316,4 a	7,5 a
Tb + 65 UFN foliar	125	22,6	183,5	814,4 b	4,5 b
Significación	ns	ns	ns	**	**

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente (** $P \leq 0,01$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: Dosis basal.

STAT: Sección transversal de área de tronco.

Si bien en los ensayos 5 y 6, la asimilación de CO_2 de los árboles bajo sobrefertilización nitrogenada tendió a ser superior en comparación al tratamiento basal (Tabla 54; Pág 172 y Tabla 55; Pág 174 respectivamente), los resultados obtenidos parecen apoyar la tesis de que la sobrefertilización nitrogenada no afecta significativamente los parámetros de producción de los manzanos (Tablas 76 y 77). Por el contrario, el exceso de abono nitrogenado parece dar lugar a una reducción de la productividad y de la carga de cosecha de los árboles, quizás como consecuencia de que los árboles bajo sobrefertilización nitrogenada logran un mayor desarrollo vegetativo, como ha sido demostrado en el ensayo 3.

Tabla 76. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 5).

Tratamientos	Nº frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
Aportes nitrogenados					
Tb	195	32,3	167,7	1467,1	8,9
Aportes	223	36,1	166,4	1267,9	7,9
Significación	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación					
NH_4NO_3	224,8	36,0	165,5	1364,3	8,6
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	220,3	36,2	167,2	1171,6	7,2
Significación	ns	ns	ns	ns	ns
Aplicación					
Edáfico	232,3	38,6	169,8	1390,9	8,4
Foliar	212,8	33,5	162,9	1144,9	7,3
Significación	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación					
Significación	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

STAT: sección transversal de área de tronco.

En ambos ensayos (ensayos 5 y 6) no encontramos efectos significativos de la interacción entre la formulación y la vía de aplicación de los fertilizantes. Sin embargo, sólo en el ensayo 6, al analizar los factores por separado encontramos que la adición de fertilizantes por vía foliar causó un aumento significativo ($P \leq 0,05$) del número de frutos por árbol al igual que la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$. Además de ello, la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ disminuyó significativamente el peso de los frutos (Tabla 77).

Tabla 77. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la producción de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 6).

Tratamientos	Nº Frutos árbol ⁻¹	Producción (kg árbol ⁻¹)	Peso fruto (g)	Productividad (g cm ⁻² STAT)	Carga de cosecha (Nº frutos cm ⁻² STAT)
Aportes nitrogenados					
Tb	179	31,2	171,7	1006,1	5,9
Aportes	151	25,5	171,8	677,9	4,2
Significación	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación					
NH₄NO₃	118	22,0	187,6	578,5	3,2
CO(NH₂)₂	184	29,1	156,0	777,2	5,1
Significación	*	ns	*	ns	ns
Aplicación					
Edáfico	138	22,9	167,5	659,0	4,2
Foliar	160	28,1	176,4	696,8	4,1
Significación	*	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación					
Significación	ns	ns	ns	ns	ns

*: Medias estadísticamente diferentes ($P \leq 0,05$).

Tb: Dosis basal.

STAT: Sección transversal de área de tronco.

Diversos autores, al tratar de dilucidar la influencia de las aportaciones nitrogenadas sobre la producción y calidad de fruto del manzano han descrito que éste elemento mineral puede afectar la fijación (Xia y Cheng, 2005) y calidad (Meheriuk *et al.*, 1992; Fallahi *et al.*, 2001; Drake *et al.*, 2002) al igual que el rendimiento (Amiri *et al.*, 2008; Nava y Roque, 2009).

Bajo las condiciones del valle del Ebro los resultados han demostrado que los manzanos, en función a sus rendimientos, no responden a las aportaciones de N independientemente del nivel de los tratamientos, de la formulación o de la vía de aplicación, debido a que probablemente sus requerimientos de N están completamente cubiertos por las grandes acumulaciones de N-mineral de los años precedentes por la alta contaminación por NO_3^- del agua de riego, o por el estatus de N del árbol. Por el contrario, el abonado nitrogenado, principalmente por vía foliar, tiende a aumentar la producción del manzano en áreas con escasa contaminación de N (Ensayos 4; EEAD).

Según Marsal *et al.* (2005), en leñosas, las dosis de abono no producen efectos detectables, como mínimo, hasta el tercer año de reiterar el tratamiento sobre los mismos árboles, lo que pudiese explicar la falta de respuesta en el rendimiento de los árboles del ensayo 2 (EEAD, 2007). Sin embargo, el ensayo 4 (EEAD, 2008) al manifestar los beneficios de la fertilización foliar en comparación a la edáfica, por inducir el aumento de algunos atributos relacionados con la producción, confirma la alta eficiencia de esta vía de aplicación de fertilizantes tal como señala (Kuepper, 2003).

Los árboles de manzano necesitan aportes de N para aumentar los rendimientos en situaciones en las que el balance de N en el sistema es bajo, como lo ocurrido en la finca experimental de la EEAD. Sin embargo, los resultados obtenidos en las plantaciones comerciales de Alfamén indican que el aumento en la aplicación de N, no se traduce en mayores rendimientos, sino que, en ocasiones, puede ocurrir lo contrario. Es más, como hemos corroborado que la reducción de las dosis del fertilizante no afecta el rendimiento del cultivo, se podría pensar en disminuir considerablemente los aportes de nitrogenados e incluso se pudiese plantear la posibilidad de llegar a no abonar, lo que sin duda mejorará la eficiencia de utilización del N en las condiciones del valle del Ebro, al reducir las pérdidas, fuente de un problema económico para el agricultor y de contaminación para el medio ambiente.

La falta de respuesta del rendimiento de los árboles de manzano a la adición de N ha sido previamente observada en variedades de manzano como 'Gala' y 'Fuji' (Ernani *et al.*, 2008; Ernani y Días 1999) así como para la 'Golden Delicious' (Basso y Suzuki, 1992), cultivadas en suelos profundos con grandes cantidades de materia orgánica. Sin embargo, en suelos con poca presencia de N, la adición de N-mineral ha aumentado el rendimiento de los árboles (Nava *et al.* 2007), demostrando la importancia de considerar el N presente en el sistema suelo-planta antes de iniciar cualquier suministro adicional a los árboles de manzano.

Estos resultados, por tanto, reflejan claramente que el manzano puede responder al aumento del N aplicado aumentando la producción. No obstante, la cantidad de abono nitrogenado que debe aplicársele para aumentar los rendimientos está altamente influenciada por todas aquellas aportaciones que constituyen el balance de N, como lo son: el aporte por la mineralización de la materia orgánica, y el N mineral del suelo y

del agua de riego. Sin embargo, como bien lo expresa la ley de los rendimientos decrecientes, con la sobrefertilización se llega a un nivel a partir del cual el aumento del abonado no produce un aumento de producción e incluso puede ocasionar un descenso.

En todo caso, las necesidades de fertilizantes nitrogenados deberían estar basadas en los rendimientos del árbol, y siempre que sea posible debe ser tomada en consideración la concentración de NO_3^- residual en el sistema suelo-agua-planta, tal como señalan Neilsen y Neisen (2003).

Calidad de frutos.

En el ensayo 1, la fertilización nitrogenada aplicada al suelo en dosis que van desde aportaciones bajas (0 y 40 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$) hasta cantidades que superan el aporte máximo permitido de 80 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$ para el cultivo de manzano en las zonas vulnerables, no indujo efectos significativos sobre los SST, la firmeza, la acidez y el índice de almidón de los frutos (Tabla 78).

Tabla 78. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la calidad del fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 1).

Tratamientos UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice almidón
0	14,6	14,8	48,1	46,2	5,0	7,8
40	14,3	14,2	50,1	49,7	4,4	8,1
80	14,6	14,4	50,3	50,3	4,82	8,2
120	14,1	14,6	50,0	49,1	4,67	8,4
200	14,4	14,4	48,2	48,5	4,62	8,2
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

A pesar de ello, estos resultados no pueden mostrarse como concluyentes debido a que en el ensayo 2 el aporte nitrogenado, aunque no bajo las mismas dosis pero sí bajo el mismo criterio de fertilización, causó un efecto significativo ($P \leq 0,05$) sobre algunos atributos de calidad de los frutos (Tabla 79).

Tabla 79. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la calidad del fruto de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 2).

Tratamientos UFN ha ⁻¹ año ⁻¹	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice almidón
0	18,9	18,5	53,2 c	54,3 c	5,7	6,5 a
32	18,9	18,1	56,6 bc	54,8 bc	5,8	4,8 b
64	18,5	18,1	60,2 ab	57,5 ab	5,6	6,2 a
97	18,7	18,2	61,9 a	59,1 a	5,8	5,7 ab
Significación	ns	ns	**	**	ns	*

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Como se aprecia en la Tabla 79, los SST, en concordancia con el ensayo 1, no manifestaron efecto significativo de los tratamientos nitrogenados ensayados. Sin embargo, al considerar en el ensayo 2 el índice de almidón observamos que los frutos de los árboles fertilizados tendieron a ser más verdes en comparación al tratamiento control por lo que tal retraso en la maduración pudo haber permitido un aumento en los SST.

Xia *et al.* (2009) describen que la concentración de SST en los frutos del manzano aumenta con el aporte nitrogenado, posiblemente, al incrementarse el suministro de carbono al fruto o acelerar la degradación del almidón. No obstante, tales resultados no pueden ser generalizados ya que, en nuestro estudio, tal parámetro de calidad no manifestó un efecto significativo del abonado nitrogenado (Tablas 78 y 79, respectivamente).

El mayor valor de firmeza de los frutos con el aporte nitrogenado detectado en el ensayo 2 pudo ser, igualmente, consecuencia del retraso en la maduración experimentado, ya que en nuestro ensayo, ciertas variables, que han sido asociadas con una mayor firmeza de los frutos como el tamaño o la concentración de calcio en pulpa, no guardaron relación con los valores de firmeza.

Sin embargo, según Xia *et al.* (2009) el hecho de aumentar el suministro de N a los árboles de manzano conduce a una mayor cantidad de células por fruto, sin que se altere su tamaño promedio. Tal afirmación podría explicar el aumento obtenido en la

firmeza de fruto con el aporte nitrogenado debido a que muy posiblemente el incremento del número de células haya modificado la densidad celular, lo que según Ebel *et al.* (1993) y Volz *et al.* (2003) afecta la firmeza.

En la temporada de 2008, los árboles de 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 4), aunque recibieron sólo dosis bajas de N, sus frutos, en la recolección, mostraron efecto significativo ($P \leq 0,05$) de la fertilización nitrogenada al exhibir mayor concentración de SST, en ambas caras del fruto, en comparación al tratamiento sin aporte nitrogenado (Tabla 80), como consecuencia, posiblemente, de que se haya aumentado el suministro de fotoasimilados al fruto, lo cual queda corroborado por el aumento en la capacidad fotosintética de las hojas con la aplicación de N (Tabla 60; Pág. 181), tal como señala Xía *et al.* (2009).

Tabla 80. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la calidad del fruto de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).

Tratamientos UFN ha ⁻¹ año ⁻¹	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice almidón
0	13,1 b	12,7 b	73,9 a	70,3 a	3,3	9,7
32 (NH ₄ NO ₃) edáfico	13,6 ab	13,1 ab	65,2 b	62,4 b	3,2	9,8
32 (NH ₄ NO ₃) foliar	14,4 a	13,7 a	66,1 b	64,8 b	3,3	9,7
32 CO(NH ₂) ₂ foliar	14,3 a	13,8 a	66,2 b	63,9 b	3,7	9,8
Significación	*	*	*	*	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).
UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

La aportación vía foliar de N aunque no manifestó diferencias significativas con la edáfica, produjo frutos con mayor concentración de SST (Tabla 80). Al mismo tiempo, el hecho de que el calibre de los frutos de los árboles fertilizados foliarmente, y en especial en el tratamiento con CO(NH₂)₂, haya sido significativamente ($P \leq 0,05$) mayor a los frutos provenientes de la fertilización edáfica (Tabla 71; Pág. 193) hace pensar que los frutos de los tratamientos foliares pudieron alcanzar mayor concentración de SST y no lo lograron debido a un potencial efecto de dilución. Además, la tendencia a la mayor productividad de los árboles con el aporte foliar igualmente indica que tales

frutos pudieron alcanzar valores más altos de SST y no lo lograron por la mayor competencia que pudo establecerse entre ellos (Tabla 74; Pág. 195).

La firmeza varió significativamente ($P \leq 0,05$), en ambas caras del fruto, por efecto del abono nitrogenado, aunque no existieron diferencias entre los tratamientos de aporte nitrogenado (Tabla 80).

Posiblemente este efecto de la fertilización nitrogenada sobre la firmeza de los frutos sea consecuencia indirecta de su tamaño; se ha descrito que en este ensayo (ensayo 4) el calibre de los frutos se incrementó con la fertilización nitrogenada y como la firmeza es considerada un atributo de calidad influenciado por el tamaño del fruto (Mpelasoka *et al.*, 2001b; Leib *et al.*, 2006; Nava *et al.*, 2008), procedimos a extraer la variabilidad aportada por el calibre. Obtuvimos que, pese a la influencia significativa ($P \leq 0,05$) del tamaño de los frutos como covariable, sigue existiendo control del aporte nitrogenado sobre la firmeza del fruto.

Según Lenhan y Whiting (2006) y Neilsen *et al.* (2007), la mayor disponibilidad de fotoasimilados permite aumentar la estabilidad de las paredes celulares de los frutos y consecuentemente la firmeza. Así, se ha detectado que tanto la capacidad fotosintética de las hojas como la concentración de carbohidratos solubles totales (Tablas 60 y 62; Págs. 181 y 183, respectivamente) aumentaron con el suministro de N, lo que posiblemente justifique el aumento en la firmeza de los frutos del ensayo 4.

Respecto a la acidez valorable y al índice de almidón, en el ensayo 4 no se detectaron diferencias significativas a consecuencia de los tratamientos nitrogenados (Tabla 80).

En el ensayo 3, al evaluar el efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre los parámetros que definen la calidad de los frutos, hemos encontrado que todos los parámetros considerados, a excepción del índice de almidón, resultaron afectados significativamente ($P \leq 0,05$) más altos cuando la sobrefertilización se realiza únicamente por la vía foliar (Tabla 81).

Tabla 81. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en recolección (ensayo 3).

Tratamientos UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L^{-1})	Índice almidón
32 (Tb)	11,9 b	11,8 b	49,7 b	46,9 b	3,8 b	9,9
Tb + 65 UFN edáfico	12,6 b	11,7 b	54,2 b	48,6 b	3,6 b	9,9
Tb + 87 UFN edáfico	12,0 b	11,3 c	52,3 b	48,4 b	3,6 b	9,9
Tb + 65 UFN foliar	13,2 a	12,2 a	62,4 a	64,8 a	4,4 a	9,9
Significación	*	*	**	**	**	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$)

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: Dosis basal.

La mayor concentración de los SST de los frutos bajo sobrefertilización foliar (Tabla 81), pudo ser consecuencia indirecta de la menor productividad y/o carga de cosecha manifestada por las plantas pertenecientes a éste tratamiento (Tb + 87 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$, vía foliar) (Tabla 75; Pág. 196), en concordancia con los hallazgos de Jordão *et al.* (2008) y Neilsen *et al.* (2006), quienes sugieren que las mayores cargas de cultivo limitan la disponibilidad de carbohidratos solubles a los frutos. Además, la ausencia de diferencias en el índice de almidón para éste ensayo, por otro lado, nos indica que la respuesta obtenida por los frutos provenientes del tratamiento foliar, en cuanto a la acumulación de SST, ha sido consecuencia de mayor disponibilidad de fotoasimilados, pero no del efecto de los tratamientos sobre la madurez del fruto. Así, Rease y Drake (1997) señalan que la mayor degradación del almidón revela un estado superior de maduración del fruto.

Estos mismos motivos pueden explicar lo ocurrido en el aumento significativo ($P \leq 0,05$) de la acidez titulable de los frutos (Tabla 81).

En el ensayo 5, a diferencia del de sobrefertilización anterior (ensayo 3), el exceso de N a los árboles de manzano 'Golden Reinders' durante la temporada de

crecimiento 2008 no provocó efectos significativos sobre los SST, firmeza, acidez e índice de almidón de los frutos (Tabla 82).

Tabla 82. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en el momento en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice de almidón
Aportes nitrogenados						
Tb	13,60	12,96	56,87	55,21	3,77	9,20
Aportes	13,01	12,83	57,25	56,63	3,91	8,85
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación						
NH_4NO_3	12,96	12,79	58,59	57,51	4,02	9,05
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	13,06	12,86	55,62	55,56	3,81	8,64
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Aplicación						
Edáfico	13,28	13,08	57,31	56,87	3,94	8,87
Foliar	12,74	12,57	57,18	56,34	3,85	8,83
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación						
Significación	*	*	ns	ns	***	***

*, **: Efecto de interacción (* $P \leq 0,05$; *** $P \leq 0,001$).

Tb: Dosis basal.

Curiosamente, a pesar de no detectarse diferencias significativas entre los tratamientos para los SST, los análisis estadísticos indicaron que la interacción entre los factores formulación y vía de aplicación era significativa (Tabla 82). Al analizar dicha interacción hemos observado que, independientemente de la cara del fruto expuesta al sol, el exceso de NH_4NO_3 vía foliar, a lo largo del ciclo productivo, causa una disminución de los SST, mientras que el de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, a pesar de mostrarse inferior al NH_4NO_3 bajo aplicación edáfica, revela un comportamiento contrario, es decir su adición vía foliar tiende a aumentar la concentración de sólidos solubles en el fruto

(Figura 22). No obstante, como ya hemos mencionado, la sobrefertilización nitrogenada no es justificable ya que no mejora los parámetros de calidad de fruto respecto al tratamiento basal.

La acidez y el índice de almidón, en el ensayo 5, presentaron una respuesta similar a los SST. Es decir, no presentaron diferencias significativas entre el tratamiento basal y las aportaciones nitrogenadas. Sin embargo, dichos parámetros de calidad revelaron un efecto similar en cuanto a las interacciones obtenidas, aunque con mayor grado de significación ($P \leq 0,001$) (Figura 22).

En líneas generales se deduce un retraso de la maduración del fruto causado por la sobrefertilización.

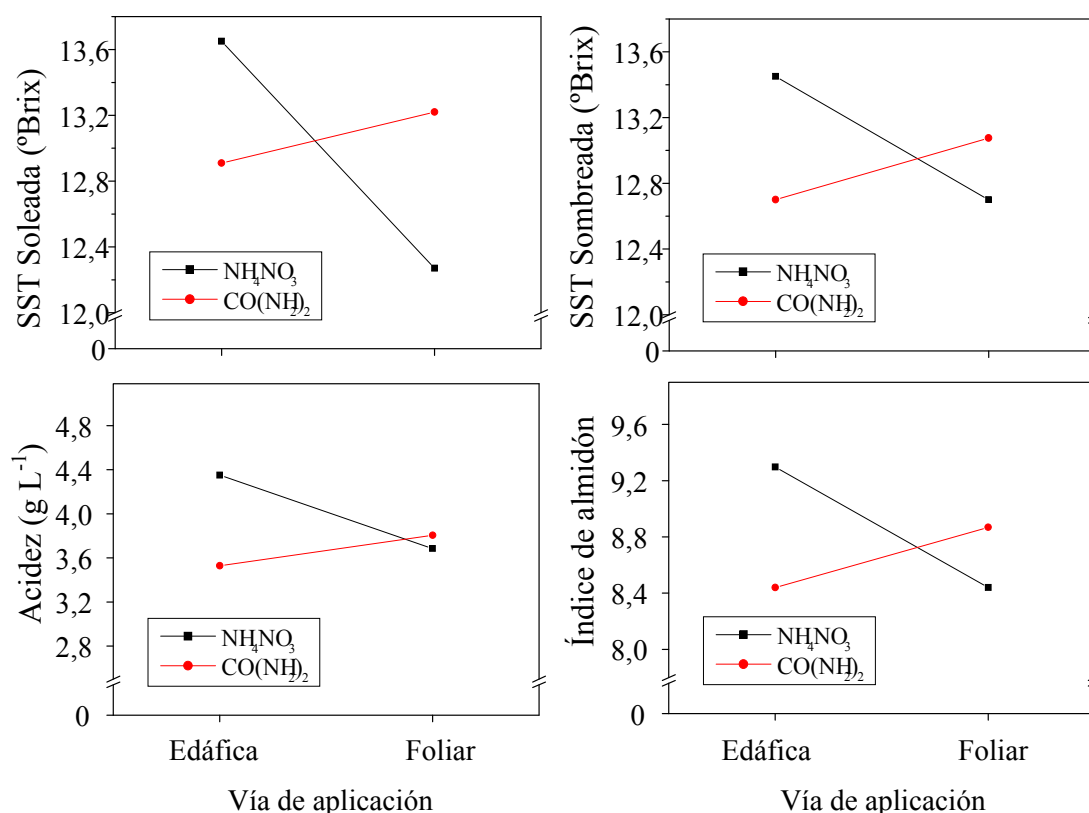


Figura 22. Efecto de interacción vía x forma de aplicación de fertilizantes nitrogenados sobre algunos parámetros de calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).

Los análisis de los atributos de calidad de los frutos para el ensayo 6, mostraron, en comparación al ensayo 5, un hecho singular: en todos los casos, a excepción de la firmeza de la cara sombreada de los frutos, el aporte nitrogenado causó un efecto significativo ($P \leq 0,05$) sobre las variables evaluadas (Tabla 83).

Tabla 83. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 6).

Tratamientos	SST (°Brix) Soleada	SST (°Brix) Sombreada	Firmeza (N) Soleada	Firmeza (N) Sombreada	Acidez (g L ⁻¹)	Índice almidón
Aportes nitrogenados						
Tb	14,52	14,12	63,67	64,09	4,47	8,28
Aportes	13,57	13,26	67,88	66,14	3,92	8,67
Significación	***	***	***	ns	***	*
Formulación						
NH_4NO_3	13,46	13,15	66,57	64,70	3,96	9,04
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	13,68	13,34	69,19	67,59	3,87	8,31
Significación	ns	*	ns	ns	ns	ns
Aplicación						
Edáfico	13,80	13,45	67,31	65,58	3,83	8,79
Foliar	13,34	13,07	68,45	66,71	4,00	8,56
Significación	*	ns	*	**	ns	*
Formulación x aplicación						
Significación	ns	***	ns	ns	*	ns

*, **, ***: Medias estadísticamente diferentes (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$).

Tb: Tratamiento basal.

Para los SST el exceso de N hizo disminuir significativamente ($P \leq 0,001$) su concentración tanto en la cara sombreada como en la soleada del fruto, resultado similar a la tendencia mostrada en el año anterior (ensayo 5).

Al analizar la influencia de los factores evaluados por separado sobre los SST, hemos observado que la vía de aplicación de N sólo afectó significativamente ($P \leq 0,05$) la concentración de los sólidos solubles en la cara del fruto expuesta al sol, al causar la fertilización foliar una disminución de dicho parámetro (Tabla 83), resultado similar al obtenido en el ciclo productivo previo (Ensayo 5).

Por otro lado, a pesar de que únicamente se obtuvo efecto significativo ($P \leq 0,001$) de interacción formulación x fuente para los SST de la parte del fruto no expuesta al sol, la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ favoreció la acumulación de sólidos solubles en fruto en la recolección en comparación al NH_4NO_3 y, aunque a nivel de la cara expuesta al sol, el análisis estadístico no reveló influencia de la formulación, la aportación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ tendió a aumentar la concentración de los SST (Tabla 83).

En 2008 y 2009, en los ensayos de sobrefertilización realizados sobre 'Golden Reinders' (ensayos 5 y 6), la interacción entre la formulación y la vía de suministro de los fertilizantes no tuvo efecto significativo sobre la firmeza de las manzanas (Tablas 82 y 83, respectivamente). Sin embargo, hemos detectado, que para ambos ensayos la firmeza aumenta con la sobrefertilización nitrogenada, aunque los efectos de la formulación y de la vía de aplicación son opuestos.

De los ensayos realizados para comparar la respuesta del manzano ante las aportaciones foliares y edáficas de dos formulaciones distintas de abono nitrogenado, el único en el que se manifestó significativamente ($P \leq 0,001$) la influencia de la aportación de N sobre la acidez de los frutos fue el realizado en 2009 sobre 'Golden Reinders' (ensayo 6), al ser superior en los manzanos del tratamiento basal (Tabla 83). De igual forma, la interacción entre la formulación del nitrogenado y su forma de aplicación tuvo un efecto significativo ($P \leq 0,05$) sobre ésta variable de calidad, manifestando un comportamiento semejante a lo expuesto para el ensayo 5.

Los frutos de 'Golden Reinders', obtenidos en la temporada 2009 (ensayo 6), presentaron significativamente ($P \leq 0,05$) mayor degradación del almidón con el aporte nitrogenado (Tabla 83), contrario a lo ocurrido en 2008 (ensayo 5), en el que el índice de almidón no manifestó estadísticamente efecto de interacción.

En relación a las interacciones obtenidas para el año 2009 (Tabla 83) hemos observado que las mismas guardan una estrecha concordancia con las respuestas obtenidas para las interacciones en el ensayo 5 en el sentido que el suministro del NH_4NO_3 por vía edáfica permite a los frutos obtener mayor cuantía en los valores del atributo de calidad donde se detectó interacción en comparación a su aportación foliar. Mientras que la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, a pesar de mostrarse inferior al NH_4NO_3 bajo aplicación

edáfica, revela un comportamiento contrario, es decir su adición vía foliar tiende a aumentar el valor del parámetro (Figura 23).

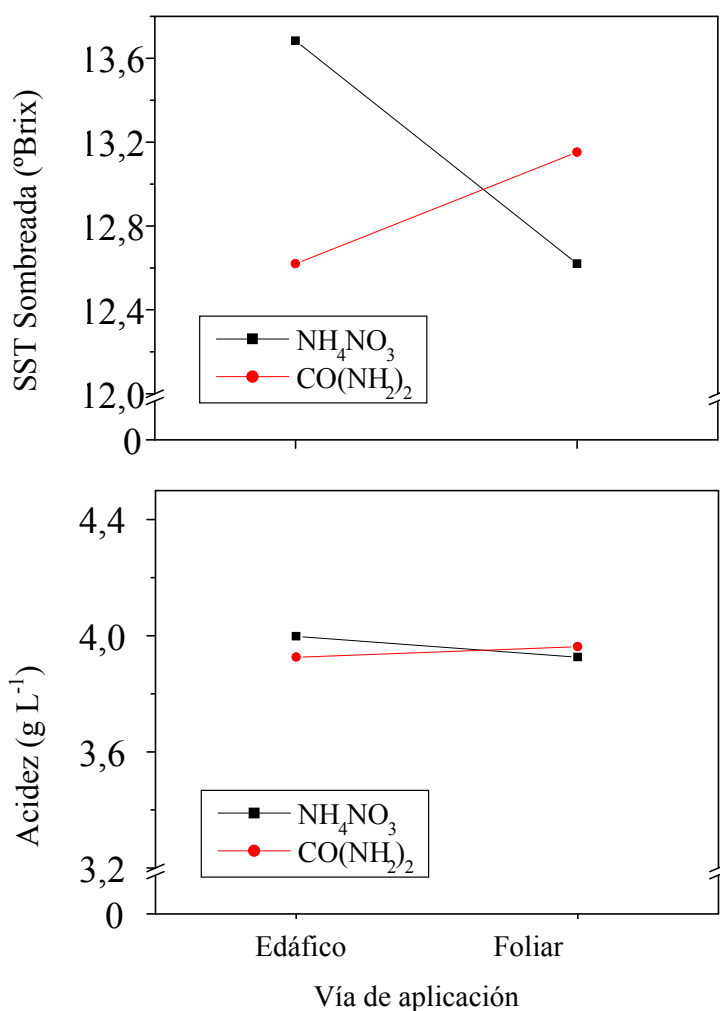


Figura 23. Efecto de interacción formulación x aplicación de los fertilizantes nitrogenados sobre algunos parámetros de calidad de fruto de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 6).

En los ensayos 5 y 6, en contraposición al ensayo 4, la aportación extra de N disminuyó la concentración de los sólidos solubles (Tablas 82 y 83). Esta discordancia en la respuesta pudo deberse, entre otras razones, a alteraciones en la relación fuente sumidero por el exceso del abonado nitrogenado. En este sentido, y aunque no estudiamos el crecimiento vegetativo en estos ensayos (5 y 6), los resultados obtenidos en el ensayo 3 indican que la sobrefertilización, principalmente la foliar con $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$,

proporciona árboles con un mayor desarrollo vegetal lo que podría suponer mayor competencia o alteraciones en las relaciones fuente sumidero.

Por otro lado, los efectos de interacción observados para los SST (Figura 22 y Figura 23) claramente indican la influencia de la aplicación de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ al follaje o el del NH_4NO_3 al suelo sobre ésta variable. Al respecto se ha mencionado que la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ es una adecuada formulación para adicionarla por vía foliar (Swietlik y Faust, 1984) debido a sus singulares propiedades fisicoquímicas dentro de las cuales se incluye la apolaridad, rápida absorción, baja fitotoxicidad y alta solubilidad tanto en agua como en aceite (Knoche *et al.*, 1994; Yamada *et al.*, 1965), al mismo tiempo que destruye las ceras de la superficie de la hoja facilitando la permeabilidad (Malavolta, 1986). Por tanto, se ha comprobado que la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, aplicada al follaje puede ser absorbida, metabolizada y traslocada muy rápidamente en comparación al NH_4NO_3 . Contrario a ello, el N inorgánico es absorbido por las raíces del manzano principalmente bajo la forma iónica NO_3^- , aunque puede absorberlo como NH_4^+ (Neilsen y Neilsen, 2003), iones monovalentes que se captan con mayor facilidad en comparación a los de mayor valencia (Fregoni, 1986). Además, se considera que la diferencia de comportamiento de la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ respecto al NH_4NO_3 , ambos adicionados al suelo, pudo haber correspondido al tiempo necesario para la hidrólisis y nitrificación de la $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$.

En este sentido y a pesar de que la aspersion foliar de nutrientes ha sido recomendada por su alta eficiencia en comparación a la forma de aplicación edáfica (Kuepper, 2003), Amiri *et al.* (2008) no describieron mejoras en la calidad de las manzanas en términos de SST al comparar el método de aplicación; tampoco Fallahi *et al.* (2002) y Cmelik *et al.* (2006), describen efectos del aporte nitrogenado sobre los SST de las manzanas.

Por otro lado, Xia *et al.* (2009), al evaluar el efecto de la nutrición nitrogenada sobre la calidad del fruto de manzanos cultivados en recipientes de plástico con arena, encontraron que con aportes de N desde 9,2 a 111,6 kg ha⁻¹ se aumenta la concentración de SST del fruto, posiblemente, al mejorar el suministro de carbono al fruto o acelerar la degradación del almidón. Sin embargo, Raese y Drake (1997) en una plantación comercial de manzanos observaron que, la dosis de fertilizante nitrogenado de 28,4 kg

ha⁻¹ en comparación a 113,6 y 170,5 kg N ha⁻¹, estimuló una mayor concentración de SST en frutos. Similarmente, bajo condiciones de campo Rease *et al.* (2007) describieron que, para 'Golden Delicious', la sobrefertilización nitrogenada provoca una disminución de la acumulación de sólidos solubles. Por tanto, los resultados obtenidos en este trabajo ponen de manifiesto que, aparentemente, la respuesta de los árboles en cuanto al comportamiento de los SST en función a la dosis de N, es dependiente del nivel de necesidad de N que pueda tener el manzano.

La firmeza, importante atributo de calidad de las manzanas, es afectada por las dosis del abono nitrogenado. Así, los frutos de árboles tratados con altas dosis de N se caracterizan por poseer menor firmeza (Rease y Drake, 1997; Neilsen *et al.*, 1999; Raese *et al.*, 2007). Sin embargo, en los ensayos de sobrefertilización hemos encontrado que la firmeza de los frutos, independientemente de la cara evaluada, presentó la tendencia a aumentar con el aporte nitrogenado.

En el ensayo 5, a diferencia del 6, el calibre de los frutos no estuvo afectado por el aporte nitrogenado. Como ya se ha mencionado anteriormente, según Xía *et al.* (2009), el suministro de N a los árboles provoca mayor cantidad de células por fruto, sin que se altere su tamaño medio, lo que permitiría explicar la tendencia al aumento en la firmeza experimentado por los frutos de los árboles sobrefertilizados en el ensayo 5. Ahora bien, en el ensayo 6, el calibre de los frutos fue significativamente ($P \leq 0,05$) menor con la sobrefertilización lo que podría explicar según Mpelasoka *et al.* (2001b), Leib *et al.* (2006) y Nava *et al.* (2008) dicho incremento de firmeza.

También se ha descrito que la acidez titulable de los frutos disminuye con las aportaciones de N (Neilsen *et al.*, 1999; Rease *et al.*, 2007). Sin embargo, sólo los resultados del ensayo 6 se manifestaron en este sentido. Para el resto de ensayos, a excepción del realizado con la finalidad de evaluar el efecto de la sobrefertilización nitrogenada (ensayo 3), la acidez de los frutos, fue una variable que no estuvo afectada por los tratamientos nitrogenados, de forma similar a otros estudios que no describieron efectos de la fertilización nitrogenada sobre la acidez titulable de frutos de manzano ni en recolección (Ernani *et al.*, 2008; Raese y Drake, 1997), ni tras un período de almacenamiento (Drake *et al.*, 2002).

Hay que resaltar que, en los ensayos realizados, el índice de almidón no mostró una influencia clara del aporte nitrogenado. Al respecto, Neilsen *et al.* (2006) observaron que manzanos 'Gala' que recibieron baja suministro de N durante las 4 primeras semanas posteriores a la floración tuvieron frutos con índices de almidón más bajos en comparación a los que recibieron mayor cantidad del fertilizante durante el mismo período. Fallahi *et al.* (2001), observaron una tendencia similar para manzanos 'Fuji'. Sin embargo, Rease y Drake (1997) consiguieron mayor degradación del almidón en frutos de 'Fuji' con las menores aportaciones de N. Ernani *et al.* (2008) no obtuvieron efecto de la fertilización nitrogenada sobre el índice de almidón en frutos de manzano 'Royal Gala', estudio realizado durante 6 ciclos productivos.

Hemos observado, a través de nuestros ensayos de fertilización, que el N no tiene efecto apreciable en la calidad de los frutos. Sin embargo, el exceso de N incide negativamente en algunos de ellos como, por ejemplo, en la concentración de SST, tal como han señalado Neilsen *et al.* (1999) y Raese *et al.* (2007).

Por otro lado, se ha demostrado que el color de los frutos del manzano esta determinado principalmente por las cantidades variables de pigmentos presentes en la piel (Reay *et al.*, 1998). Este cambio de color se debe a la degradación de la clorofila y a la síntesis y/o desenmascaramiento de otros pigmentos como antocianos y carotenos. En el caso de las variedades utilizadas en este estudio, ambas del grupo 'Golden', la coloración verde/amarillento es debida a la presencia de pigmentos fotosintéticos como clorofilas y carotenoides (Dixon y Hewett, 1988). Además, se ha señalado que el color amarillento de los frutos es uno de los criterios de aceptación más usados por el consumidor en el momento de adquirir manzanas "Golden Delicious" (Williams y Billngsely, 1974) y que el N es un importante factor que influye sobre el color de los frutos (Raese y Williams, 1974). La intensidad de color amarillo se aumenta con el bajo aporte de N (Williams y Billngsely, 1974; Meheriuk *et al.*, 1992).

Los frutos obtenidos de la plantación 'Golden Reinders' durante el ciclo productivo 2006 (Tabla 84, ensayo 1), no manifestaron un efecto significativo de las dosis crecientes de N sobre su cromatismo. Por el contrario, en los árboles 'Smoothee Golden Delicious' (ensayo 2), se observa un efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los aportes nitrogenados sobre alguno de los parámetros de color (Tabla 85). Así, en el

ensayo 2, el valor de la coordenada a^* difirió significativamente ($P \leq 0,05$) entre tratamientos, al contribuir la aportación nitrogenada con el aumento en la coloración verde (menor valor de a^*), aunque sólo en la cara del fruto expuesta al sol y con las dosis más altas de N (Tabla 85).

Tabla 84. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 1).

Parámetro de color	Cara del fruto	Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)					Significación
		0	40	80	120	200	
Luminosidad (L*)	Sombreada	73,0	73,1	72,9	73,3	72,7	ns
	Soleada	74,5	74,5	74,5	74,2	74,3	ns
Coord. Cromaticidad (a*)	Sombreada	-14,1	-14,0	-14,1	-13,8	-14,2	ns
	Soleada	-14,7	-14,7	-14,6	-14,9	-14,8	ns
Coord. Cromaticidad (b*)	Sombreada	42,6	42,6	42,7	42,5	42,6	ns
	Soleada	43,6	43,5	43,4	43,3	43,5	ns
Tono (C*)	Sombreada	45,0	44,9	45,0	44,8	44,9	ns
	Soleada	46,0	45,9	45,9	45,8	45,9	ns
Ángulo del matiz (H°)	Sombreada	108,2	108,2	108,2	107,9	108,4	ns
	Soleada	108,7	108,7	108,7	109,1	108,8	ns

ns: no significativo ($*P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Si bien, los ensayos 1 y 2 se realizaron con los mismos criterios de fertilización, hay que puntualizar que los árboles del ensayo 1 se habían fertilizados tradicionalmente durante aproximadamente, 20 años, siguiendo las prácticas de abonado utilizadas en las plantaciones comerciales para la zona, mientras que los del ensayo 2 no habían recibido aporte nitrogenado hasta el momento del experimento. Esto podría indicar que: 1^{ro} bajo las condiciones del ensayo 1, existían altos niveles de N en el suelo ya sea por los

aportes de la mineralización de la materia orgánica, el agua de riego o los abonados previos que impiden a los árboles de 'Golden Reinders' responder a las dosis bajas ensayadas y 2^{do} que los árboles han desarrollado algún mecanismo que ha impedido la asimilación del exceso de N aplicado al suelo.

Tabla 85. Efecto la fertilización nitrogenada edáfica sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en la recolección (ensayo 2).

Parámetro de color	Cara del fruto	Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)				Significación
		0	32	64	97	
Luminosidad (L*)	Sombreada	71,0	73,4	75,1	73,0	ns
	Soleada	71,8	71,2	75,5	73,4	ns
Coord. Cromaticidad (a*)	Sombreada	-6,9	-5,7	-9,3	-7,4	ns
	Soleada	-2,7 b	-3,3 b	-9,5 a	-10,1 a	*
Coord. Cromaticidad (b*)	Sombreada	42,4 b	43,4 b	49,1 a	44,6 b	*
	Soleada	42,1 b	42,8 b	48,6 a	43,6 b	**
Tono (C*)	Sombreada	45,8 b	45,8 b	50,5 a	46,6 b	*
	Soleada	45,1 b	46,6 b	50,2 a	45,7 b	**
Ángulo del matiz (H°)	Sombreada	96,9	95,2	100,2	98,6	ns
	Soleada	91,4 b	91,7 b	100,9 a	102,2 a	*

En la misma fila, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$). UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Como hemos mencionado, en el ensayo 2, los frutos de los árboles con las menores dosis de N presentaron una coloración de piel menos verdosa (valores de a* más elevados) en comparación al resto de los tratamientos (64 y 97 UFN ha⁻¹ año⁻¹); sin embargo, sólo detectamos diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para la cara del fruto expuesta al sol (Tabla 85). Los valores del ángulo de matiz (H°) corroboran estos resultados.

En la Tabla 85 observamos que los frutos de los árboles tratados con 64 UFN ha⁻¹ año⁻¹ manifestaron significativamente una transición más rápida del color verde al amarillo, lo que pudo ser consecuencia de la menor tendencia a la productividad y carga de cosecha de estos árboles (Tabla 73; Pág. 194). Al respecto, Meheriuk *et al.* (1992) señalan que el alto rendimiento del manzano 'Golden Delicious' puede ser un factor importante en la mayor coloración verde de la piel de los frutos.

Según los resultados del ensayo 4, al permanecer los árboles de manzano sin recibir aportaciones inorgánicas de N tras varios ciclos productivos, la adición de dosis bajas de N (32 UFN ha⁻¹ año⁻¹) no modifica significativamente la cromaticidad de la piel de las manzanas en comparación con los árboles que siguen sin recibir N (Tabla 86).

Tabla 86. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Smoother Golden Delicious' en la recolección (ensayo 4).

Parámetro de color	Cara del fruto	Nitrógeno (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)				Significación
		0	32 NH ₄ NO ₃ edáfico	32 NH ₄ NO ₃ foliar	32 CO(NH ₂) ₂ foliar	
Luminosidad (L*)	Sombreada	72,3	72,4	71,2	71,7	ns
	Soleada	71,9	70,4	69,5	69,8	ns
Coord. Cromaticidad (a*)	Sombreada	-15,8	-15,9	-14,8	-15,3	ns
	Soleada	-3,9	-3,6	-3,4	-3,5	ns
Coord. Cromaticidad (b*)	Sombreada	41,7	41,8	42,6	41,9	ns
	Soleada	42,1	38,8	41,1	39,4	ns
Tono (C*)	Sombreada	44,6	44,8	45,2	44,7	ns
	Soleada	43,5	40,1	42,7	40,8	ns
Ángulo del matiz (H°)	Sombreada	110,8	110,9	109,1	110,0	ns
	Soleada	100,3	93,8	93,4	93,8	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

La nula influencia de la fertilización nitrogenada evaluada en el ensayo 4 corrobora lo señalado por Neilsen *et al.* (1984), en el sentido de que son necesarios aportes altos de N para retardar la degradación de la clorofila y, en consecuencia, reducir el color amarillo de fondo en frutos 'Golden Delicious'.

Respecto al efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la cromaticidad de los frutos (ensayo 3), los resultados señalan que la mayoría de parámetros colorimétricos manifestaron la influencia de los tratamientos (Tabla 87).

Tabla 87. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 3).

Parámetro de color	Cara del fruto	Tratamientos (UFN ha^{-1} año^{-1})				Significación
		32 (Tb)	Tb + 65 UFN edáfico	Tb + 87 UFN edáfico	Tb + 65 UFN foliar	
Luminosidad (L^*)	Sombreada	74,1 a	75,0 a	74,7 a	72,1 b	**
	Soleada	75,4 a	74,8 a	74,8 a	70,4 b	**
Coord. Cromaticidad (a^*)	Sombreada	-15,4	-13,6	-12,7	-12,4	ns
	Soleada	-13,2 a	-8,3 b	-13,5 a	-10,6 b	*
Coord. Cromaticidad (b^*)	Sombreada	43,6 a	41,1 b	41,9 b	42,4 b	**
	Soleada	43,7 a	42,9 b	42,2 bc	41,1 c	**
Tono (C^*)	Sombreada	46,4 a	43,7 c	44,2 bc	45,2 b	**
	Soleada	45,9 a	44,6 b	44,7 b	42,9 c	**
Ángulo del matiz (H°)	Sombreada	110,6	109,1	108,0	109,4	ns
	Soleada	106,8 a	100,8 c	107,5 a	104,3 b	*

En la misma fila, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

Tb: Dosis basal.

Como podemos observar (Tabla 87), los valores de luminosidad (L^*) de los frutos del tratamiento basal y de los sobrefertilizados vía suelo, no manifestaron diferencias significativas entre sí, sin embargo, los frutos de los árboles sobrefertilizados foliarmente presentaron significativamente ($P \leq 0,05$) menor luminosidad que el resto de tratamientos, independientemente de la cara expuesta al sol.

Para los valores de a^* , los resultados demuestran que, sólo la cara soleada de los frutos manifestó influencia significativa ($P \leq 0,05$) de los tratamientos, siendo los frutos del tratamiento $65 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ vía edáfica, de verde menos intenso (mayor valor de a^*) en comparación al resto, aunque similar estadísticamente a la aportación foliar de N (Tabla 87).

En este ensayo, el exceso de N indujo, independientemente de la cara del fruto expuesta al sol, un retraso significativo ($P \leq 0,05$) en la transición del color verde al amarillo de los frutos (menores valores de b^*), aunque la cara soleada de los frutos sobrefertilizados foliarmente fue la menos amarilla (menores valores de b^*) (Tabla 87).

El análisis para el tono (C^*) indica que los frutos reflejan las distintas dosis del abonado aplicado, al disminuir significativamente ($P \leq 0,05$) la saturación del color con el aporte nitrogenado (Tabla 87).

Sobre el lado sombreado de las manzanas, los valores de H° no difirieron significativamente. En el soleado, aunque el tratamiento de $87 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ por vía edáfica no presentó cambios significativos respecto al control, fue estadísticamente superior al resto de los tratamientos exceso de abonado, de los que, el T2 ($65 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ por vía edáfica) resultó ser inferior (Tabla 87).

En definitiva, los resultados del ensayo 3 indican que la sobrefertilización nitrogenada provoca un retraso en el viraje del color verde al amarillo.

En el ensayo 5, a diferencia del ensayo 3, la exceso de nitrógeno no causó efectos significativos sobre la cromaticidad de la piel de los frutos (Tabla 88), aunque los frutos de los árboles con exceso de abonado tendieron a ser algo más verdes (menores valores de a^* y mayores de H°), aunque ligeramente más claro.

Resultados similares, en cuanto a la coloración de las manzanas, se han obtenido en el ensayo 6 (Tabla 89), aunque se observaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en los parámetros L^* y H° en la cara soleada del fruto y en a^* , en la sombreada.

Tabla 88. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 5).

Tratamientos	Luminosidad (L*)		Coord. Cromaticidad (a*)				Tono (C*)		Ángulo del matiz (H°)	
	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada
Aportes nitrogenados										
Tb	74,81	75,33	-9,52	-13,93	40,90	41,16	42,43	43,59	102,99	108,74
Aportes	74,81	74,46	-11,26	-14,64	41,54	41,58	43,44	44,18	104,97	109,43
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación										
NH_4NO_3	74,24	73,84	-12,29	-15,52	41,24	41,12	43,44	44,02	106,43	110,67
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	75,39	75,08	-10,23	-13,76	41,83	42,04	43,44	44,33	103,51	108,20
Significación	*	**	ns	**	ns	*	ns	ns	*	**
Aplicación										
Edáfico	74,93	74,84	-10,00	-14,13	41,49	41,79	43,25	44,24	103,27	108,75
Foliar	74,70	74,08	-12,52	-15,15	41,58	41,37	43,62	44,11	106,67	110,11
Significación	ns	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	*	*
Formulación x aplicación										
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*, **: Medias estadísticamente diferentes (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$).

Tb: Dosis basal.

Tabla 89. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la cromaticidad de los frutos de manzanos 'Golden Reinders' en la recolección (ensayo 6).

Tratamientos	Luminosidad (L*)		Coord. Cromaticidad (a*) (b*)				Tono (C*)		Ángulo del matiz (H°)	
	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada	soleada	sombreada
Aportes nitrogenados										
Tb	73,30	72,74	-12,02	-11,61	45,13	44,52	46,96	46,31	104,39	104,82
Aportes	72,03	72,30	-13,09	-13,51	44,53	44,60	46,76	46,89	106,74	106,11
Significación	**	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	*	ns
Formulación										
NH_4NO_3	72,21	72,57	-12,61	-12,17	44,85	44,88	46,94	46,78	104,99	105,46
$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	71,85	72,02	-13,58	-14,86	44,21	44,33	46,58	46,83	108,48	106,76
Significación	ns	ns	ns	***	ns	ns	ns	ns	**	ns
Aplicación										
Edáfico	72,35	72,56	-12,08	-12,75	44,05	44,23	46,24	46,24	105,92	104,86
Foliar	71,03	72,04	-14,11	-14,28	45,02	44,98	47,39	47,37	107,56	107,35
Significación	ns	ns	*	ns	ns	ns	**	**	ns	ns
Formulación x aplicación										
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*, **, ***: Medias estadísticamente diferentes (* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$; *** $P \leq 0,001$).

Tb: Dosis basal.

De estos ensayos de fertilización nitrogenada podemos extraer que, si bien el N es considerado como uno de los nutrientes que produce respuestas más evidentes en la planta, su influencia sobre la cromaticidad de los frutos es altamente dependiente de la racionalidad con que se ha manejado la fertilización nitrogenada en la plantación. Es decir, la sobrefertilización nitrogenada puede conducir a un deterioro de la calidad visual de las manzanas.

Por otra parte, la incidencia de fisiopatías en frutos reflejó el efecto del aporte nitrogenado suministrado por vía edáfica (Figuras 24 y 25).

Según los resultados obtenidos, para el ensayo 1, la ocurrencia de bitter pit fue mayor en todos los casos respecto al tratamiento sin aporte nitrogenado ($0 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$). Sin embargo, observamos en la Figura 24 que las dosis a partir de los $80 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ no se corresponden con la mayor proporción de frutos afectados por ésta fisiopatía.

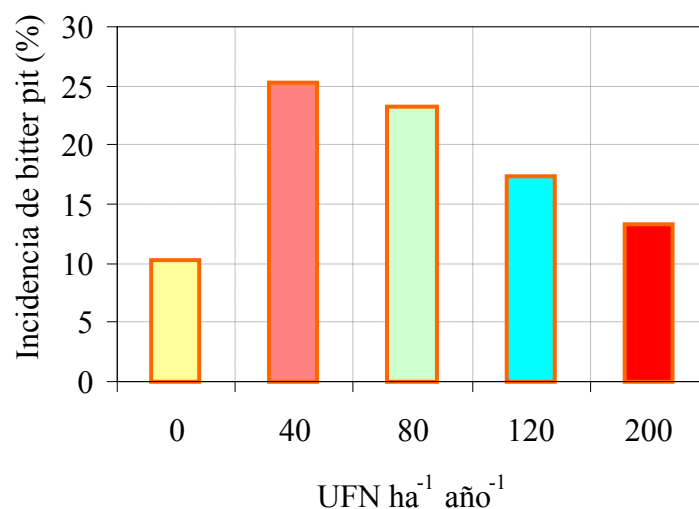


Figura 24. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' a los 30 días de almacenamiento (ensayo 1).

Al evaluar la evolución de la incidencia de bitter pit, en los frutos obtenidos en el ensayo 2, durante el almacenamiento, observamos que los datos obtenidos para los tratamientos a los que se adicionó N se ajustaron a curvas logarítmicas naturales ($P \leq 0,05$), con coeficientes de correlación que variaron entre 0,733 y 0,979. Sin

embargo, los análisis estadísticos no demostraron una bondad del ajuste significativa para el tratamiento con 0 UFN ha⁻¹ año⁻¹ (Figura 25), en el que más bien se ajustaba a una recta.

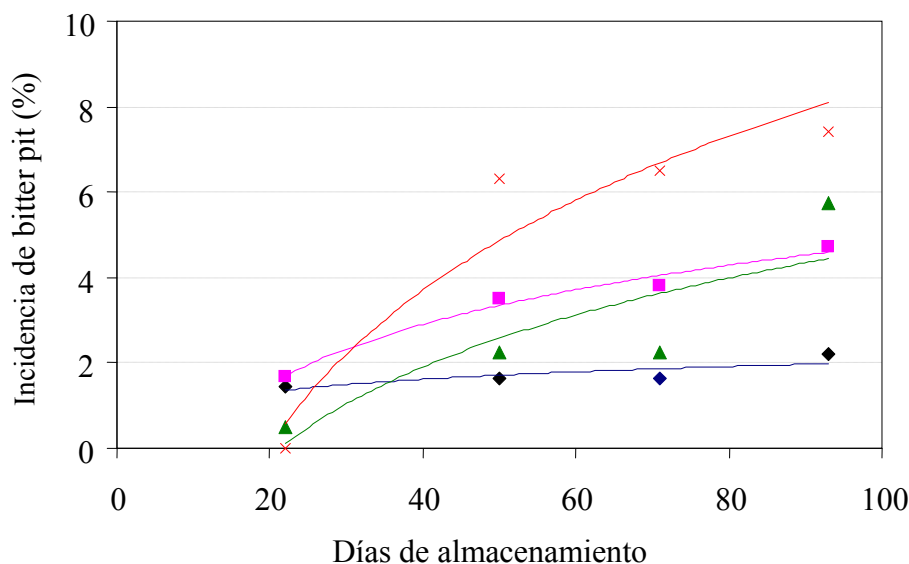


Figura 25. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' durante el almacenamiento (ensayo 2). (♦ 0 UFN ($y = 0,4312 \ln(x) + 0,0268$) ($r^2=0,6875^{ns}$); ■ 32 UFN ($y = 2,0034 \ln(x) - 4,4907$) ($r^2=0,9794^{**}$); ▲ 64 UFN ($y = 3,0116 \ln(x) - 9,2072$) ($r^2=0,7335^*$); × 97 UFN ($y = 5,2093 \ln(x) - 15,517$) ($r^2=0,917^*$)).

En el ensayo 2, a diferencia del ensayo 1 y, a pesar de que la incidencia de la fisiopatía en los frutos aumentó en todos los casos con respecto al tratamiento basal (0 UFN ha⁻¹ año⁻¹), a partir de la segunda fecha de observación, la incidencia de bitter pit guardó relación con las dosis de N. Es decir, el aumento en la dosis de N produjo mayor proporción de frutos afectados por la calciopatía (Figura 25). Además, los resultados del ensayo 2 revelan, al igual que lo ocurrido en los ensayos de nutrición hídrica, que la incidencia del bitter pit aumenta a medida que transcurre el tiempo de almacenamiento.

En el ensayo 3, en todos los tratamientos a los que se aplicó exceso de abono nitrogenado, la evolución de la incidencia de bitter pit se ajustó a líneas de tendencia logarítmicas en función del tiempo de almacenamiento (Figura 26), con coeficientes de determinación superiores al 0,916 y, en todos los casos, los análisis de bondad de ajuste resultaron ser estadísticamente significativos ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$).

Sin embargo, hay que señalar que para el tratamiento basal (32 UFN), prácticamente la incidencia de bitter pit, a partir del segundo muestreo, no varió con el transcurrir del tiempo, por lo tanto, los datos no se ajustaron al modelo establecido para el resto de tratamientos. En este tratamiento los datos se ajustaban mejor a una recta.

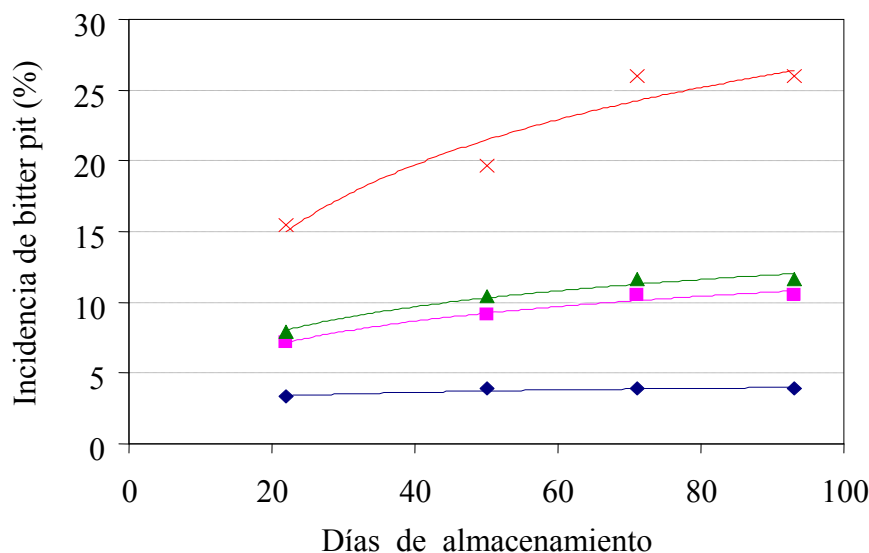


Figura 26. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 3). (♦ 32 UFN (Tb) ($y = 0,4184 \ln(x) + 2,0941$) ($r^2=0,8354^{ns}$); ■ Tb + 65 UFN edáfico ($y = 2,5349 \ln(x) - 0,6799$) ($r^2=0,9659^*$); ▲ Tb + 87 UFN edáfico ($y = 2,7696 \ln(x) - 0,5222$) ($r^2=0,9677^*$); × Tb + 65 UFN foliar ($y = 7,8742 \ln(x) - 9,3216$) ($r^2=0,916^*$)).

Todos los frutos de este ensayo, almacenados bajo las mismas condiciones, tenían similar potencial para desarrollar las lesiones de ésta calciopatía. A pesar de ello, se constató, al igual que en los ensayos anteriores, que la aportación nitrogenada afecta negativamente la calidad del fruto al aumentar el porcentaje de bitter pit durante el período el almacenamiento.

En la Figura 26 se puede observar que la sobrefertilización foliar es muy perjudicial al duplicar la incidencia del bitter pit respecto a la aplicación de la misma dosis, por vía edáfica.

De acuerdo con los estudios anteriores (ensayos 1, 2 y 3), en los ensayos 4, 5 y 6 la incidencia de bitter pit aumentó con el tiempo de almacenamiento y, según los resultados obtenidos, el aporte nitrogenado a lo largo de la estación de crecimiento

induce mayor incidencia de la fisiopatía, respecto al tratamiento basal (Figuras 27, 28 y 29, respectivamente).

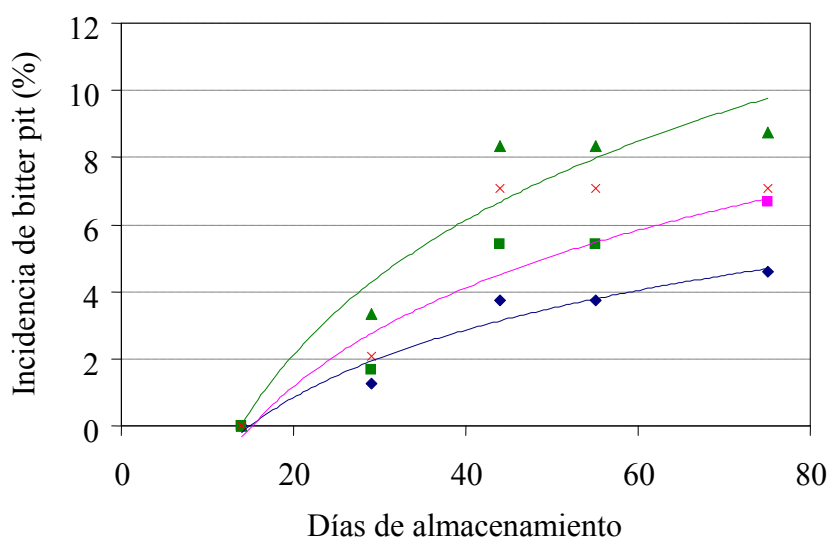


Figura 27. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Smoother Golden Delicious' durante el almacenamiento (ensayo 4). (♦ 0 UNF ($y = 2,905 \ln(x) - 7,859$) ($r^2=0,942^{**}$); ■ 32 UFN NH₄NO₃ edáfico ($y = 4,236 \ln(x) - 11,515$) ($r^2 = 0,935^{*}$); ▲ 32 UFN NH₄NO₃ foliar ($y = 5,781 \ln(x) - 15,197$) ($r^2=0,922^{*}$); x 32 UFN CO(NH₂)₂ foliar ($y = 4,8824 \ln(x) - 13,023$) ($r^2=0,876^{*}$).

En los ensayos 4, 5 y 6 (Figuras 27, 28 y 29, respectivamente), el rápido aumento de la incidencia de bitter pit y su posterior tendencia a la estabilización con el transcurrir del tiempo de evaluación, independientemente de la aplicación de N, permitió deducir que tal incidencia y su variación en función al tiempo de almacenamiento en cámara bajo frío convencional (2 a 4 °C), sigue una tendencia logarítmica. En promedio, el coeficiente de determinación (r^2) obtenido en los análisis de regresión de las curvas para los ensayos 4, 5 y 6 fue de 0,902 y, en todos los casos, a excepción de los tratamientos T3, T4 y T5 del ensayo 6, los análisis de bondad de ajuste resultaron ser estadísticamente significativos ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$).

Según los resultados obtenidos, la susceptibilidad de los frutos a la incidencia de bitter pit varía en función de la formulación y la vía de aplicación del fertilizante nitrogenado. De hecho, los valores de incidencia con los tratamientos foliares se sitúan por encima de los edáficos, siendo la aportación de CO(NH₂)₂, en comparación a la de NH₄NO₃, la que causa mayor pérdida de calidad de los frutos respecto a la incidencia de

bitter pit (Figuras 27, 28 y 29, respectivamente). Por el contrario, cuando son dirigidas al suelo las aportaciones de N el efecto de la formulación presenta un comportamiento contrario (Figuras 27 y 28).

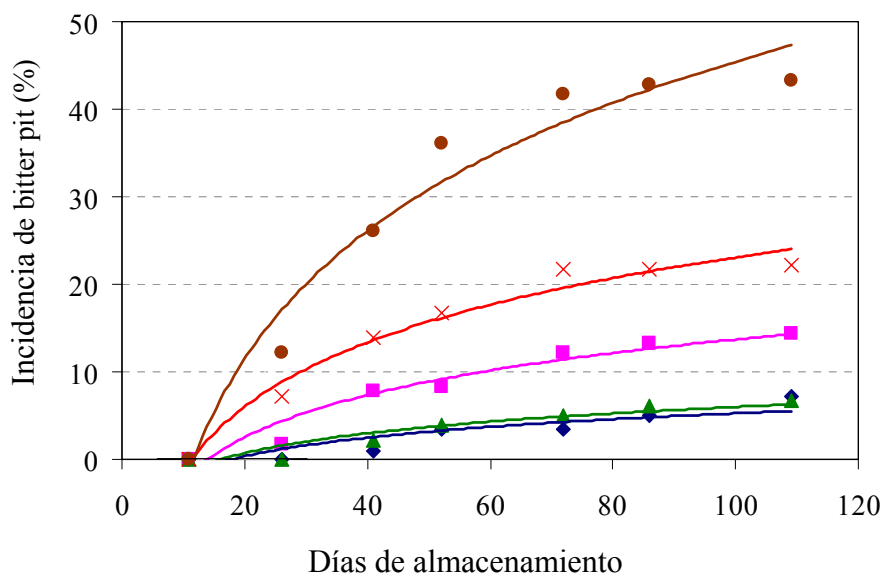


Figura 28. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 5). (◆ 32 UFN (Tb) ($y = 3,048 \ln(x) - 8,772$) ($r^2 = 0,784^*$); ■ Tb + 32 UFN NH₄NO₃ E ($y = 6,9371 \ln(x) - 18,25$) ($r^2 = 0,939^*$); ▲ Tb + 32 UFN CO(NH₂)₂ E ($y = 3,2739 \ln(x) - 9,0948$) ($r^2 = 0,8834$); × Tb + 32 UFN NH₄NO₃F ($y = 10,599 \ln(x) - 25,73$) ($r^2 = 0,9768$); ● Tb + 32 UFN CO(NH₂)₂F ($y = 21,118 \ln(x) - 51,794$) ($r^2 = 0,959^*$)).

Gran parte de la inversión realizada por el productor durante la pre- y postcosecha se pierde debido a que el bitter pit alcanza su mayor incidencia durante el almacenamiento, lo que está directamente relacionado con los altos niveles de N en el sistema suelo-agua-planta (Raese y Drake, 1997), tal como lo corrobora los resultados de nuestro trabajo. Si bien las causas que inducen estas fisiopatías en las manzanas y su forma de evitarlas aún no están completamente definidas, debido a la dificultad de comprender las complejas relaciones entre nutrientes, una forma práctica de reducir su riesgo consiste en un adecuado ajuste de la nutrición mineral del árbol, tal como proponen Terblanche *et al.* (1980).

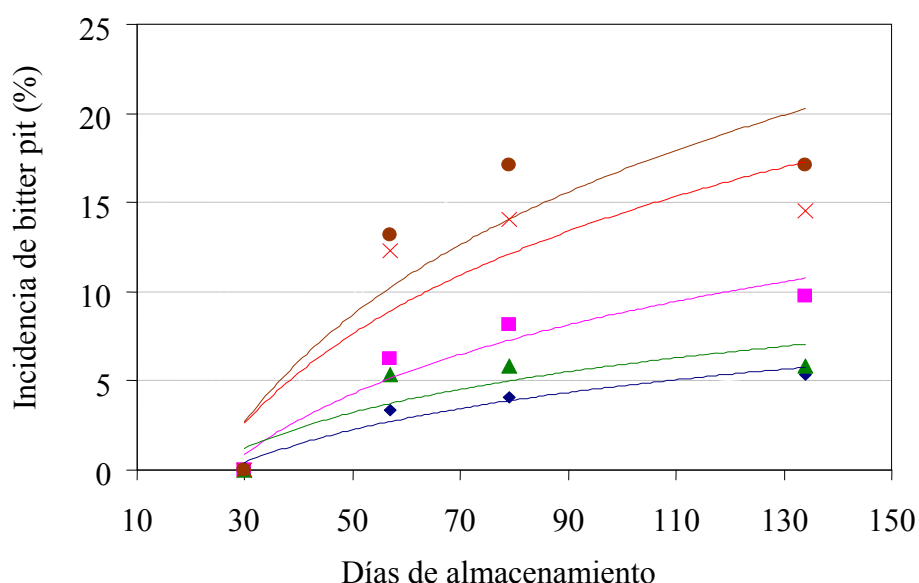


Figura 29. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la incidencia de bitter pit en frutos de manzanos 'Golden Reinders' durante el almacenamiento (ensayo 6). (◆ 24 UFN (Tb)($y = 3,5644\text{Ln}(x) - 11,69$) ($r^2 = 0,949$) ($r^2 = 0,784^*$); ■ Tb + 32 UFN NH₄NO₃ edáfico ($y = 6,579 \text{Ln}(x) - 21,467$) ($r^2 = 0,932^*$); ▲ Tb + 32 UFN CO(NH₂)₂ edáfico ($y = 3,8892 \text{Ln}(x) - 11,993$) ($r^2 = 0,733^{\text{ns}}$); × Tb + 32 UFN NH₄NO₃ foliar ($y = 9,7878 \text{Ln}(x) - 30,656$) ($r^2 = 0,791^{\text{ns}}$); ● Tb + 32 UFN CO(NH₂)₂ foliar ($y = 11,706 \text{Ln}(x) - 37,082$) ($r^2 = 0,821^{\text{ns}}$).

En general, la incidencia de bitter pit está directamente influenciada por las dosis de abonado nitrogenado, aunque queda demostrado que el nitrógeno, en las condiciones de estudio, no tiene efectos apreciables en la calidad de fruto del manzano, exceptuando que el exceso de fertilización nitrogenada tiende a producir frutos algo más verdes.

Contenido de nutrientes en hojas y frutos del manzano.

En esta parte del trabajo se presentan los resultados del efecto de la fertilización nitrogenada sobre el estado nutricional de los árboles de manzanos haciendo énfasis en la concentración de elementos minerales del tejido foliar y de los frutos en diferentes fechas de muestreo, y sobre la evolución del contenido de nutrientes a nivel de hojas con el transcurrir de la estación de crecimiento. Se analizan los resultados de los ensayos 1, 2, 3, 4 y 5.

Fertilización Edáfica: (ensayos 1 y 2).

Elementos minerales en hoja

Macronutrientes.

En la Figura 30 se representa la evolución de la concentración de N, P y K analizados en hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente con diferentes dosis de N. Como se observa, la concentración de estos elementos disminuyó con el transcurrir del tiempo, excepto la de P que, en 'Smoother Golden Delicious', aumentó en el momento de la recolección.

En efecto, como se ha mencionado, la concentración de N foliar disminuye de un muestreo a otro, correspondiendo el valor más alto al primer muestreo. Los análisis estadísticos, en cada fecha de evaluación, indicaron sólo diferencias significativas ($P \leq 0,05$), para este elemento, en la recolección (tercer muestreo) del ensayo 2, al ser las concentraciones de N de los tratamientos T-64 y T-97 estadísticamente similares entre sí, pero a la vez superiores ($P \leq 0,05$) al resto de tratamientos (Figura 30).

En el ensayo 1, a pesar de no haberse detectado diferencias significativas entre tratamientos, el análisis de medidas repetidas en el tiempo permitió concluir que la concentración de N varía en los 3 momentos temporales evaluados ($P \leq 0,001$), disminuyendo según avanza la estación siguiendo una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) (Tabla 90). Además, la concentración de N, en los dos primeros puntos de muestreo, tendió a ser superior en todos los tratamientos a los que se adicionó N. En cambio, para la última fecha de evaluación, parece haberse manifestado una relación cuadrática entre la concentración de N foliar y el adicionado por los tratamientos. Es decir, las dosis más altas (120 y 200 UFN ha⁻¹ año⁻¹) no produjeron mayores acumulaciones de N, sino que causaron un descenso en su concentración.

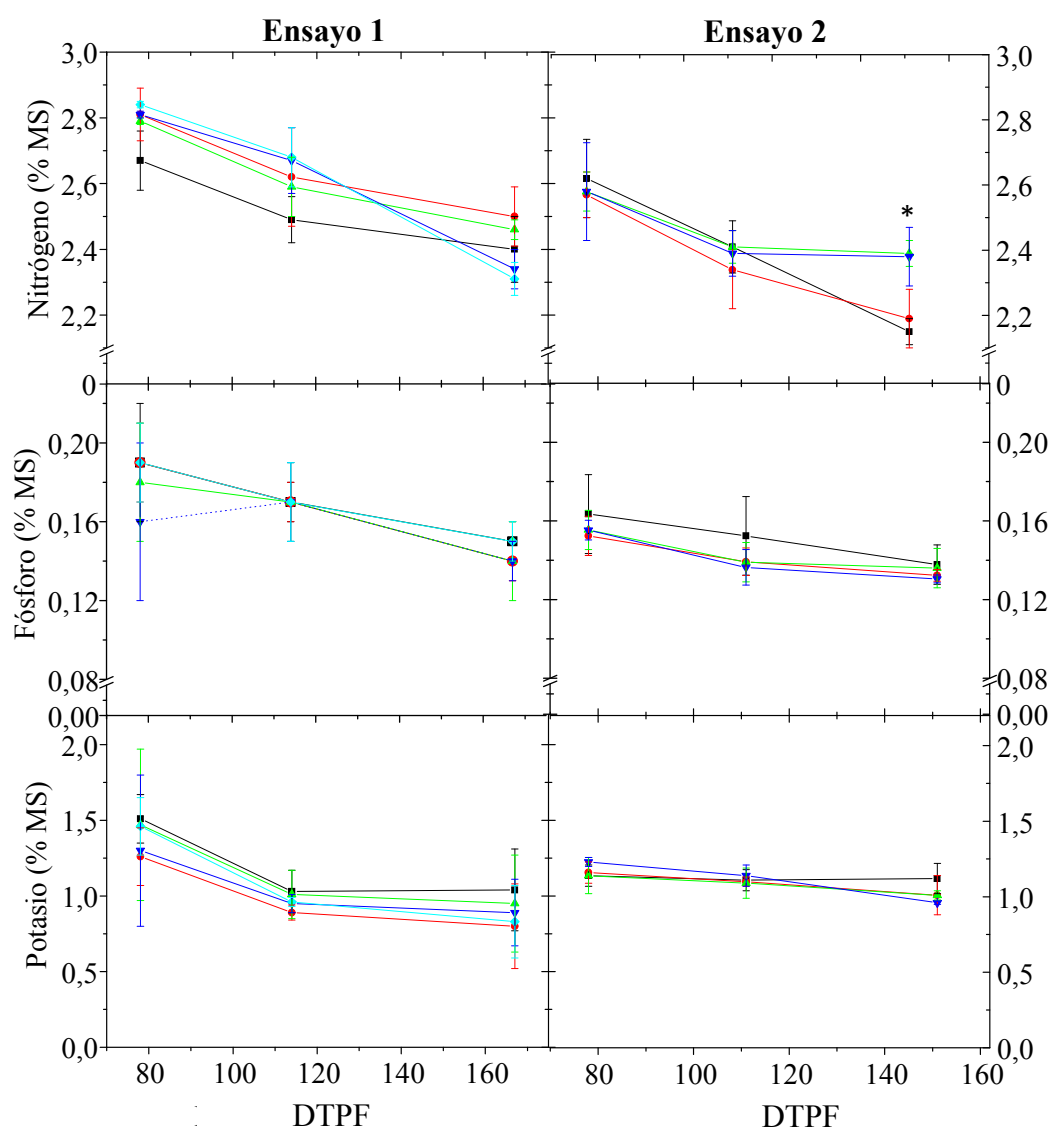


Figura 30. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos fertilizados edáficamente con nitrógeno (Ensayo 1: 'Golden Reinders'; Ensayo 2: 'Smoother Golden Delicious').

Ensayo 1 (—■— 0 UFN —●— 40 UFN —▲— 80 UFN —▼— 120 UFN —◆— 200 UFN).

Ensayo 2 (—■— 0 UFN —●— 32 UFN —▲— 64 UFN —▼— 97 UFN).

En el ensayo 2, la concentración de N también fue distinta de un muestreo a otro ($P \leq 0,001$), siguiendo una tendencia lineal estadísticamente significativa ($P \leq 0,001$) (Tabla 90).

Tabla 90. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (ensayos 1 y 2).

Ensayo 1	N	P	K	Ca	Mg
Tendencia lineal	***	***	***	***	ns
Tiempo (MR)	***	***	***	***	***
Ensayo 2					
Tendencia lineal	***	***	***	***	*
Tiempo (MR)	***	ns	***	***	ns

ns, *, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.

MR: Medidas repetidas en el tiempo.

Independientemente del ensayo y de la fecha de evaluación, los tratamientos nitrogenados no causaron variaciones significativas en la concentración foliar de P en cada evaluación. En 'Golden Reinders' (ensayo 1), el nivel de P, al igual que el de N, fue significativamente ($P \leq 0,001$) distinto de un muestreo a otro, descendiendo bajo una tendencia lineal estadísticamente significativa ($P \leq 0,001$) con el avance de la estación (Tabla 90). Contrario a ello, para 'Smoothee Golden Delicious', la concentración de P no fue distinta de un muestreo al otro (Tabla 90).

Con el transcurso de la estación la concentración de P, para el ensayo 2, describe una tendencia lineal altamente significativa ($P \leq 0,001$) (Tabla 90).

En nuestros experimentos de fertilización edáfica, aunque no detectamos efecto significativo de las aportaciones nitrogenadas en la concentración de K foliar para cada fecha de muestreo, ésta, en ambos ensayos, disminuyó linealmente ($P \leq 0,001$) conforme avanzó la estación (Figura 30) Las hojas de los árboles no tratados en el ensayo 1 mostraron mayor concentración de K en comparación al resto de los tratamientos, comportamiento observado solamente en la recolección en el ensayo 2. Por otra parte, los análisis de medidas repetidas en el tiempo permitieron detectar que las concentraciones de K cambiaron significativamente en función del tiempo ($P \leq 0,001$), en ambos ensayos (Tabla 90).

En la Figura 31 se muestra la evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders' y 'Smoother Golden Delicious', ambos bajo la influencia de los tratamientos nitrogenados por vía edáfica.

En cada fecha de análisis, la concentración de Ca no manifestó diferencias significativas debidas al aporte de nitrógeno. Sin embargo, independientemente de los tratamientos, el nivel de Ca aumentó linealmente ($P \leq 0,001$) con el avance de la temporada (Tabla 90).

El tratamiento con N, realizado bajo las condiciones de estos ensayos, no indujo efecto significativo sobre la concentración de Mg en hojas, en ningún momento del muestreo.

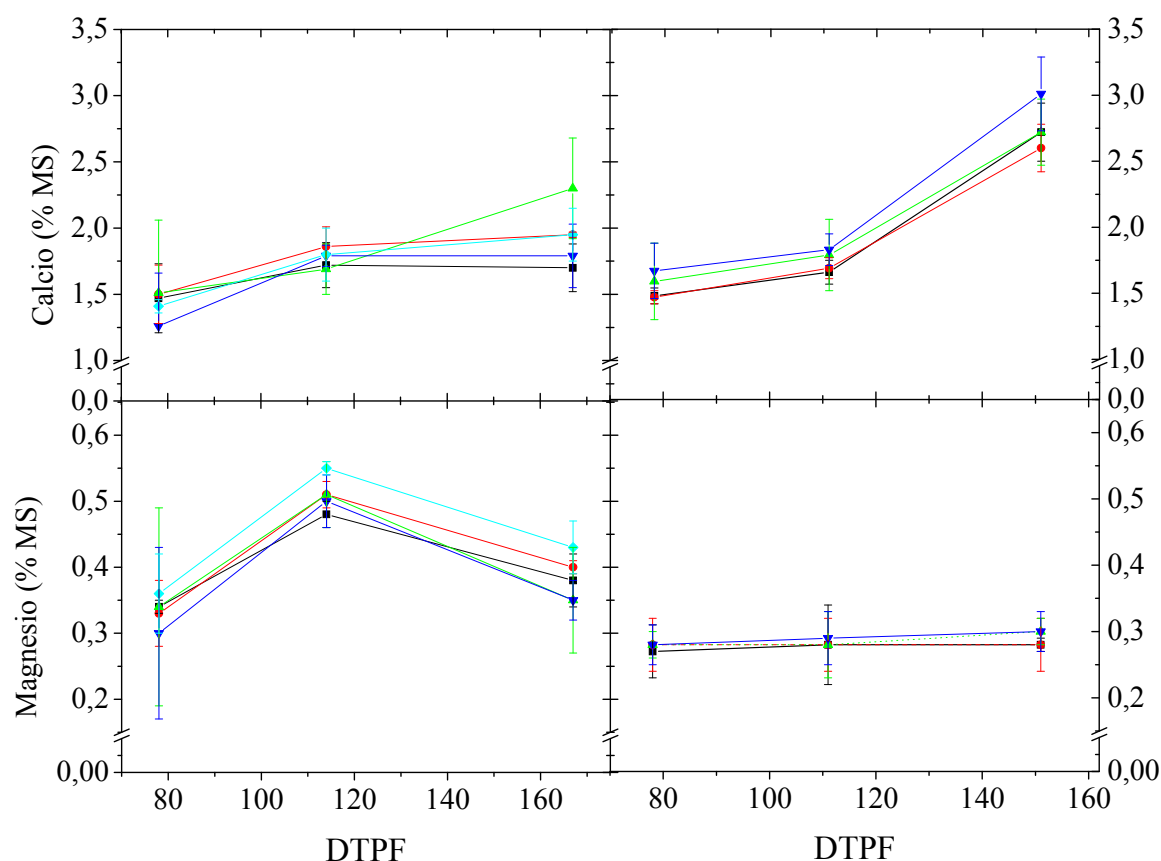


Figura 31. Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente con nitrógeno.

Ensayo 1 (—■— 0 UFN —●— 40 UFN —▲— 80 UFN —▼— 120 UFN —◆— 200 UFN).
 Ensayo 2 (—■— 0 UFN —●— 32 UFN —▲— 64 UFN —▼— 97 UFN).

En la Figura 31 se observa que la concentración de Mg aumenta, en el ensayo 1, hasta aproximadamente los 120 DTPF pero, tras esta fecha, descendió en una proporción casi similar a la del aumento señalado previamente, por lo que no siguió una tendencia lineal (Tabla 90). Los análisis de medidas repetidas en el tiempo indican que el contenido de Mg fue distinto de un muestreo a otro ($P \leq 0,001$) (Tabla 90).

En 'Smoothe Golden Delicious' (ensayo 2), la evolución de la concentración de Mg fue estable en el tiempo, siguiendo una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) y, aunque se aprecia en la Figura 31 un ligero aumento con el avance de la estación, los análisis estadísticos revelan que, en función del tiempo, la concentración no fue distinta (Tabla 90).

Elementos minerales en hoja

Micronutrientes.

En la Figura 32 se presenta la evolución de la concentración foliar de los 4 microelementos (Fe, Mn, Cu y Zn) estudiados durante la ejecución de los ensayos 1 y 2.

En general, para ambos ensayos, la concentración foliar de Fe no manifestó efecto significativo de los tratamientos nitrogenados entre muestreos, aunque el Fe en las hojas de 'Golden Reinders', bajo las condiciones de experimentación de este ensayo, aumentó con el transcurso de la estación de crecimiento, observándose que, en recolección, las hojas de los árboles con mayores aportes nitrogenados (120 y 200 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$) presentaron una concentración de Fe más alta. Por otra parte, los análisis demostraron diferencias significativas ($P \leq 0,001$) en la concentración de Fe entre los muestreos, aumentando a lo largo de la temporada según una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) (Tabla 91).

Al contrario que en el ensayo 1, en el ensayo 2, la concentración foliar de Fe disminuyó en el segundo punto de muestreo en los tratamientos de mayor dosis nitrogenada (64 y 97 UFN $\text{ha}^{-1} \text{año}^{-1}$), mientras que para el resto de los tratamientos se mantuvo estable. Posteriormente, en recolección, el contenido de Fe, aumentó, en todos los tratamientos a niveles superiores que los del primer momento de evaluación (Figura 32). Sin embargo, a pesar de este comportamiento, en la Tabla 91 se observa

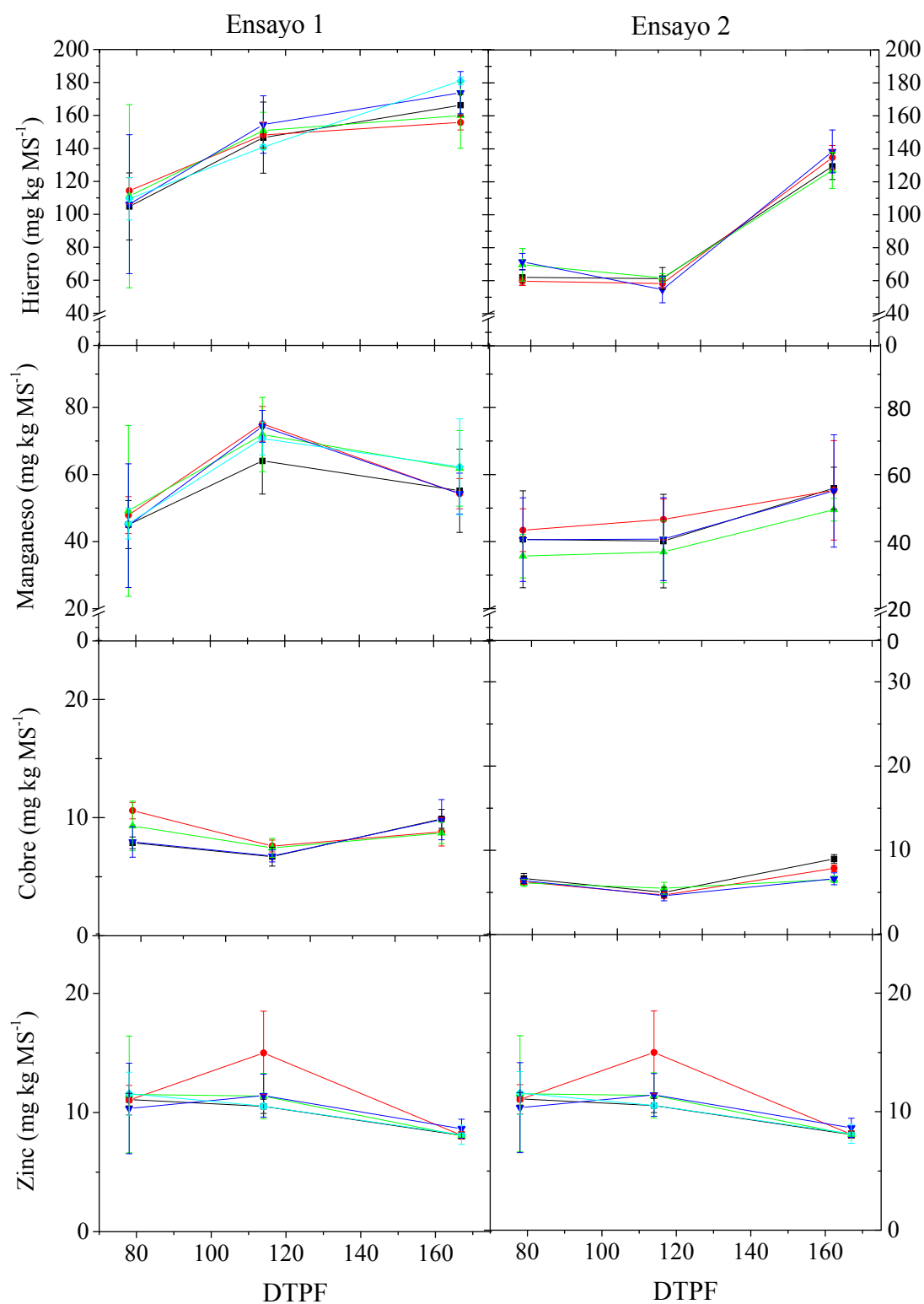


Figura 32. Evolución de la concentración de micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' (ensayo 1) y 'Smoother Golden Delicious' (ensayo 2) fertilizados edáficamente con nitrógeno.

Ensayo 1 (—■— 0 UFN —●— 40 UFN —▲— 80 UFN —▼— 120 UFN —◆— 200 UFN).
 Ensayo 2 (—■— 0 UFN —●— 32 UFN —▲— 64 UFN —▼— 97 UFN).

que los análisis estadísticos permitieron determinar que los datos siguen una tendencia lineal con el transcurso de la estación ($P \leq 0,001$).

La concentración foliar de Mn en ambos ensayos no mostró cambios significativos dentro de cada muestreo realizado. Según observamos en la Tabla 91, la evolución en el tiempo de la concentración de Mn siguió una tendencia lineal significativa ($P \leq 0,05$). Los análisis de medidas repetidas en el tiempo indican que, en el ensayo 1, el contenido de Mn fue diferente de un muestreo a otro ($P \leq 0,001$). Por el contrario, en el ensayo 2 la concentración de Mn no manifestó variaciones significativas con el avance de la estación.

Tabla 91. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (ensayos 1 y 2).

Ensayo 1	Fe	Mn	Cu	Zn
Tendencia lineal	***	*	***	***
Tiempo (MR)	***	***	***	***
Ensayo 2				
Tendencia lineal	***	***	ns	ns
Tiempo (MR)	***	ns	***	ns

ns, **, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,01$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.
MR: Medidas repetidas en el tiempo.

La concentración de Cu fue diferente de un muestreo a otro ($P \leq 0,001$), disminuyendo sólo en el ensayo 1 según una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) (Tabla 91). Los tratamientos nitrogenados no indujeron cambios en los puntos de muestreo.

Los análisis estadísticos revelaron que no hubo efecto significativo de los tratamientos nitrogenados en la concentración de Zn en cada muestreo. Los análisis de medidas repetidas en el tiempo permiten concluir que la concentración de Zn, en el ensayo 1, no es la misma en los 3 momentos temporales evaluados ($P \leq 0,001$), disminuyendo con el avance de la estación según una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) (Tabla 91). Por el contrario, en el ensayo 2, el contenido en Zn se mantuvo estadísticamente

similar en función del tiempo, por lo que no sigue una tendencia lineal significativa (Tabla 91).

Elementos minerales en fruto

En las Tablas 92 y 93 se presenta la concentración de Ca, Mg y K en piel y pulpa de frutos de manzanos en 2 fechas durante la ejecución de los ensayos 1 y 2, respectivamente.

Como se aprecia en la Tabla 92, los tratamientos de N, bajo las condiciones de este ensayo, no indujeron efectos significativos sobre la concentración de Ca, K y Mg, tanto en piel como en pulpa de frutos 'Golden Reinders', en ninguna de las 2 fechas de evaluación. Sólo la relación entre los distintos elementos (K+Mg)/Ca en la piel de los frutos fue diferente ($P \leq 0,05$) a los 78 DTPF, al ser el valor de esta relación superior en los tratamientos de 0 y 40 UFN ha⁻¹ año⁻¹, en comparación con el resto de dosis evaluadas. En recolección, no se detectaron diferencias significativas en los valores de la relación (K+Mg)/Ca en la piel de los frutos.

De manera general, observamos en la Tabla 92, que la concentración de Ca, K y Mg desciende a medida que el fruto se desarrolla.

Por otra parte, en la Tablas 92 y 93, apreciamos que la concentración de elementos minerales en frutos de 'Smoother Golden Delicious' bajo diferentes dosis de abonado nitrogenado, de manera similar a los de 'Golden Reinders' no manifestaron influencia significativa de los niveles de N ensayados. Sólo, en los frutos en cosecha, el Ca a nivel de pulpa mostró diferencias significativas ($P \leq 0,05$) de los tratamientos al ser su concentración, en las hojas de los árboles bajo la influencia de los tratamientos 0 y 97 UFN ha⁻¹ año⁻¹, estadísticamente similares entre sí y, a la vez, superior que la del resto de los tratamientos. El Ca en pulpa, aunque no mostró diferencias significativas a los 90 DTPF, los valores manifestaron una tendencia similar a la encontrada en cosecha, en la que parece haberse manifestado una relación cuadrática entre el Ca y el N adicionado por los tratamientos.

En el ensayo 2, la relación (K+Mg)/Ca en pulpa de fruto presentó el mismo comportamiento en ambas fechas de evaluación. Sin embargo, sólo se observó un efecto significativo ($P \leq 0,05$) de los tratamientos de N en la cosecha, fecha en la que los

valores más altos de la relación se obtuvieron con las dosis intermedias de N, en contraste con el resto de los tratamientos que no difirieron significativamente entre sí (Tablas 92 y 93).

Tabla 92. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de frutos de manzanos 'Golden Reinders' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 1).

Nitrógeno (UFN $\text{ha}^{-1}\text{año}^{-1}$)	Pulpa				Piel			
	Ca	K	Mg	(K+Mg) /Ca	Ca	K	Mg	(K+Mg) /Ca
DTPF								
78								
0	8,6	105,1	5,2	12,8	107,7	258,1	29,6	2,7 b
40	8,9	105,3	5,7	12,5	89,0	265,2	30,6	3,3 a
80	8,2	103,0	5,2	13,2	137,3	242,3	26,9	2,0 bc
120	10,5	108,2	5,9	10,9	293,10	296,8	34,0	1,3 c
200	10,1	110,3	5,7	11,5	254,1	343,2	32,7	1,5 c
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	*
167 (cosecha)								
0	1,5	91,6	4,4	64,0	5,9	189,5	30,1	37,4
40	1,7	84,7	4,4	52,4	7,3	183,5	30,1	31,4
80	1,2	81,9	4,0	71,8	7,3	177,5	27,3	30,2
120	1,5	87,3	4,3	61,1	11,5	176,7	30,9	18,8
200	1,6	95,0	4,4	60,3	8,4	178,9	30,9	26,5
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

De forma similar a lo observado en 'Golden Reinders', la concentración de Ca, K y Mg, tanto en piel como en pulpa de frutos 'Smoothie Golden Delicious', desciende a medida en que avanza la estación de crecimiento. Sólo el K en pulpa tuvo un comportamiento opuesto (Tablas 92 y 93).

Tabla 93. Efecto de la fertilización nitrogenada edáfica sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de fruto de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 2).

Tratamientos (UFN $\text{ha}^{-1}\text{año}^{-1}$)	Pulpa				Piel			
	Ca	K	Mg	(K+Mg)/ Ca	Ca	K	Mg	(K+Mg)/C a
DTPF								
90								
0	2,9	97,0	93,6	67,4	20,2	275,4	97,8	19,0
32	2,7	96,0	93,8	70,2	20,5	266,4	96,6	18,2
64	2,7	97,1	89,1	72,8	18,2	262,9	96,6	20,3
97	3,0	104,0	94,2	66,8	23,8	307,8	98,8	17,1
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
151 (Cosecha)								
0	2,1 a	111,5	4,8	56,8 b	14,0	161,5	36,5	14,2
32	1,7 b	114,4	4,8	72,7 a	14,6	178,8	39,2	15,0
64	1,7 b	121,7	5,1	76,1 a	13,1	170,0	37,2	15,8
97	2,0 a	115,4	5,0	60,1 b	15,8	184,2	39,0	14,3
Significación	*	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son estadísticamente diferente ($P \leq 0,05^*$).

UFN.: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Fertilización nitrogenada a dosis bajas: (ensayo 4).

Elementos minerales en hoja

Macronutrientes.

En la Figura 33 se presenta la evolución de las concentraciones de N, P y K en tejido foliar de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' bajo condiciones de fertilización nitrogenada a dosis bajas (ensayo 4).

Según los análisis de varianza realizados, las concentraciones de N, P y K en cada muestreo no manifestaron diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, en los análisis en los que se considera la evolución, se observó que estos 3 nutrientes siguen una tendencia lineal en función del tiempo (Tabla 94).

Así mismo, los contenidos de N y K fueron distintos en el tiempo ($P \leq 0,001$), pero no los de P, que no difirieron significativamente en el tiempo (Tabla 94).

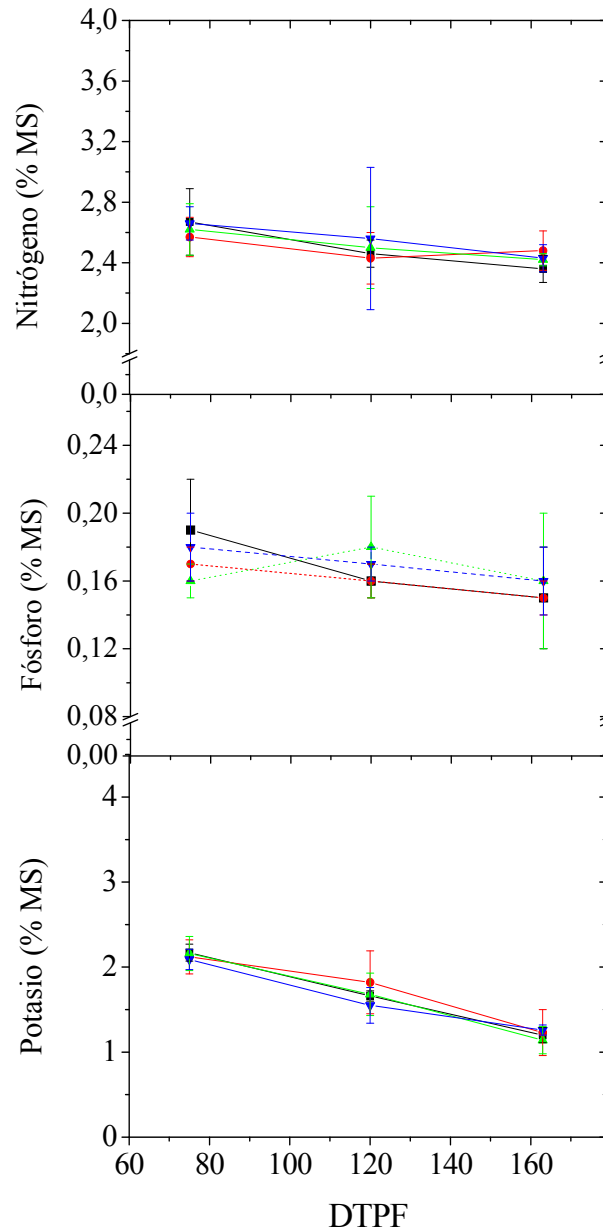


Figura 33. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' a dosis bajas de N (ensayo 4).

(—■— 0 UFN —●— 32 UFN (NH₄NO₃) edáfico —▲— 32 UFN (NH₄NO₃) foliar
—▼— 32 UFN (CO(NH₂)₂) foliar).

En la Figura 34 puede apreciarse como varía la concentración de Ca y Mg en hojas de manzano 'Smoothie Golden Delicious' con el avance de la estación. De estos dos elementos, sólo el Ca siguió una tendencia lineal ($P \leq 0,001$), disminuyendo con el transcurrir de la temporada (Tabla 94).

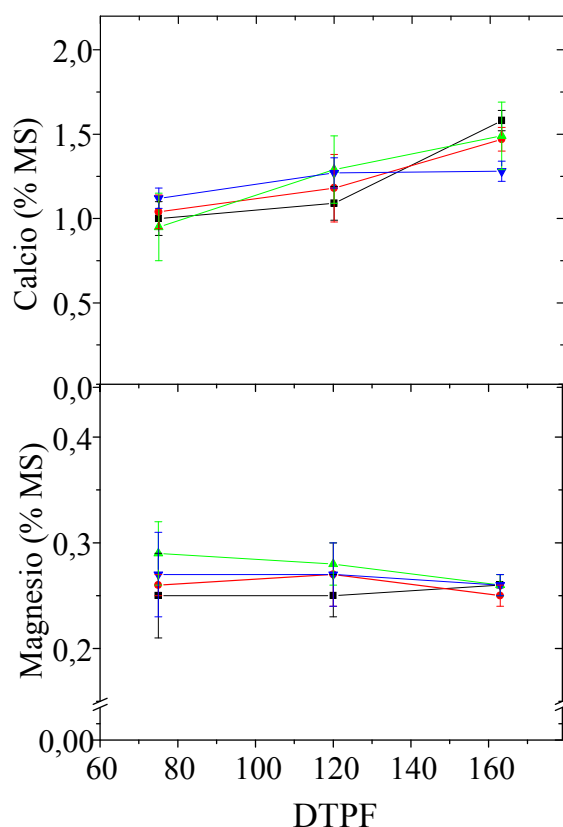
Tabla 94. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayo 4).

Ensayo 3	N	P	K	Ca	Mg
Tendencia lineal	***	*	***	***	ns
Tiempo (MR)	***	ns	***	***	ns

ns, *, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.

MR: Medidas repetidas en el tiempo.

Aunque no hubo efecto significativo de los tratamientos nitrogenados sobre la concentración de Ca y Mg en ninguna de las fechas de evaluación, según los análisis de medidas repetidas en el tiempo, el Ca varió su concentración de un muestreo a otro ($P \leq 0,001$), mientras que el Mg se mantuvo estable (Tabla 94).

**Figura 34.** Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' a dosis bajas de N (ensayo 4).

(—■— 0 UFN —●— 32 UFN (NH₄NO₃) edáfico —▲— 32 UFN (NH₄NO₃) foliar
—▼— 32 UFN (CO(NH₂)₂) foliar).

Elementos minerales en hoja.**Micronutrientes.**

En la Figura 35 se presenta la evolución de la concentración foliar de los 4 microelementos (Fe, Mn, Cu y Zn) estudiados en diferentes fechas tras la plena floración en manzanos 'Smoothie Golden Delicious' sometidos a dosis bajas de fertilizante nitrogenado (ensayo 4).

Los análisis de varianza no desvelaron diferencias significativas para ninguno de los micronutrientes foliares estudiados, independientemente del momento de evaluación. Los análisis repetidos en el tiempo indicaron que los contenidos de Fe, Mn y Zn variaron significativamente con el avance de la estación de crecimiento (Tabla 95), aunque sólo el Fe y el Mn mantuvieron una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) a través del tiempo. El contenido de Cu, por otra parte, se mantuvo estable a lo largo de las evaluaciones realizadas (Tabla 95).

Tabla 95. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayo 4).

Ensayo 4	Fe	Mn	Cu	Zn
Tendencia lineal	***	***	ns	ns
Tiempo (MR)	***	*	ns	***

ns, *, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.
MR: Medidas repetidas en el tiempo.

Elementos minerales en frutos.

En la Tabla 96 se presenta la concentración Ca, K y Mg en pulpa y piel de frutos de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' fertilizados con N a dosis bajas.

Los resultados más relevantes respecto a la composición mineral de la pulpa se han obtenido en recolección, al manifestar la concentración de Ca y Mg diferencias significativas ($P \leq 0,05$) en función de los tratamientos. La adición de 32 UFN ha⁻¹ año⁻¹ bajo la formulación de NH₄NO₃ y suministrado por vía foliar promovió la mayor

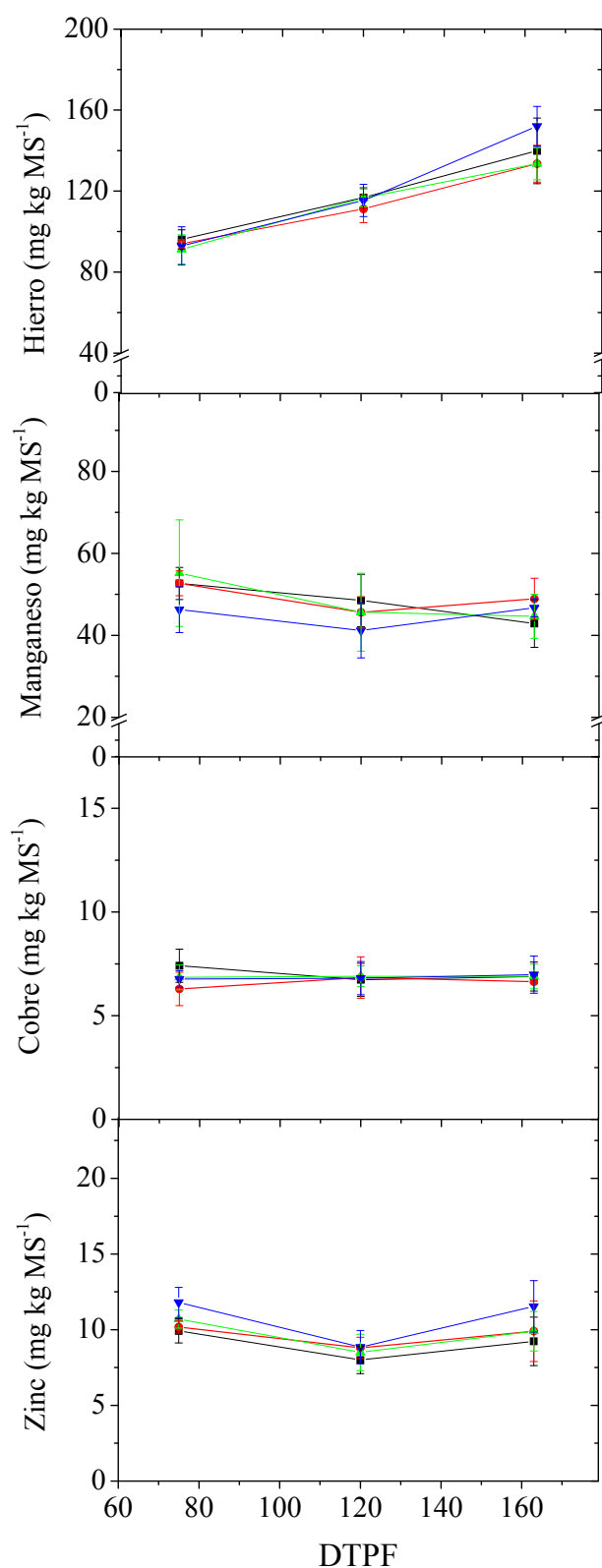


Figura 35. Evolución de la concentración micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzanos 'Smoother Golden Delicious' fertilizados a dosis bajas de N (ensayo 4).

(—■— 0 UFN —●— 32 UFN (NH₄NO₃) edáfico —▲— 32 UFN (NH₄NO₃) foliar
—▼— 32 UFN (CO(NH₂)₂) foliar).

concentración de estos nutrientes. Por otra parte, en la piel, sólo el Mg en recolección, estuvo afectado por los tratamientos al ser su concentración significativamente ($P \leq 0,05$) inferior en los frutos de los árboles bajo el T4 (32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, vía foliar).

Tabla 96. Efecto de la fertilización nitrogenada a dosis bajas sobre la concentración de Ca, Mg y K ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}\text{MF}$) en piel y pulpa de frutos de manzanos 'Smoothie Golden Delicious' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 4).

Tratamiento (UFN ha^{-1} año $^{-1}$)	Pulpa				Piel			
	Ca	K	Mg	(K+Mg)/ Ca	Ca	K	Mg	(K+Mg)/ Ca
DTPF								
75								
0 UFN	3,6	84,5	6,5	27,6	14,5	175,7	34,9	15,1
32 UFN NH_4NO_3 edáfico	3,8	86,1	6,4	25,4	15,8	176,7	36,4	15,2
32 UFN NH_4NO_3 foliar	3,0	82,6	6,0	29,6	14,2	173,1	37,6	15,7
32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar	2,7	83,7	6,1	33,3	15,4	175,6	35,7	15,4
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
151 (cosecha)								
0 UFN	1,6	70,4 b	4,4 ab	49,7	7,9	165,5	26,9 a	24,4
32 UFN NH_4NO_3 edáfico	1,4	70,2 b	4,0 b	53,4	7,8	163,2	25,0 ab	24,1
32 UFN NH_4NO_3 foliar	1,8	77,0 a	4,6 a	47,3	7,6	157,7	25,1 ab	24,1
32 UFN $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar	1,5	67,2 c	4,2 b	50,7	7,3	161,9	22,0 c	25,2
Significación	ns	*	*	ns	ns	ns	*	ns

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son significativamente diferente ($P \leq 0,05$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno.

DTPF: Días tras plena floración.

Sobrefertilización: (ensayos 3 y 5).

Elementos minerales en hoja.

Macronutrientes.

En la Figura 36 se representa la evolución de las concentraciones de N, P y K analizados en hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' (ensayos 3 y 5), sometidos a sobrefertilización nitrogenada, tanto edáfica como foliar. Como se observa, el nivel de estos elementos disminuyó, de manera general, con el transcurrir del tiempo.

En efecto, los análisis de medidas repetidas en el tiempo corroboran, en ambos ensayos, que el contenido de N varió significativamente entre muestreos ($P \leq 0,001$), manifestando a la vez, con el avance de la estación, una disminución bajo tendencia lineal ($P \leq 0,001$) (Tabla 97).

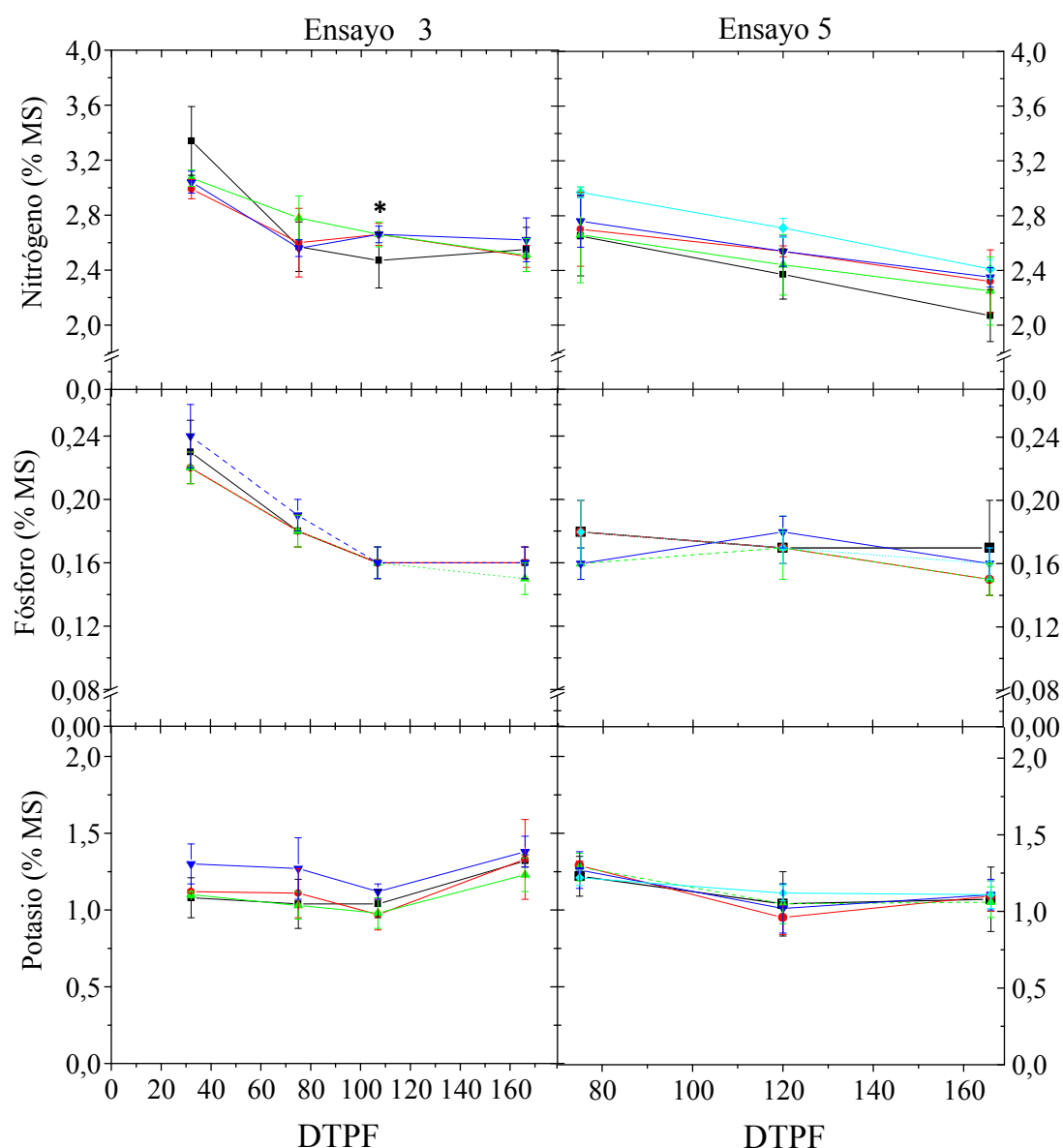


Figura 36. Evolución de la concentración de N, P y K en hojas de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización nitrogenada.

Ensayo 3 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 65 UFN edáfico —▲— Tb + 87 UFN edáfico
—▼— Tb + 65 UFN foliar).

Ensayo 5 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 32 UFN (NH_4NO_3) edáfico —▲— Tb + 32 UFN
 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ edáfico —▼— Tb + 32 UFN (NH_4NO_3) foliar —◆— Tb + 32 UFN
 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar).

Tabla 97. Tendencia lineal de los macronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayos 3 y 5).

Ensayo 3	N	P	K	Ca	Mg
Tendencia lineal	***	***	*	***	ns
Tiempo (MR)	***	***	*	***	ns
Ensayo 5					
Tendencia lineal	***	*	***	ns	***
Tiempo (MR)	***	ns	***	***	***

ns, *, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.
MR: Medidas repetidas en el tiempo.

En el ensayo 3 los análisis indicaron que, únicamente a los 107 DTPF (tercer muestreo) la concentración de N foliar en los árboles sobrefertilizados fue significativamente ($P \leq 0,05$) superior respecto al tratamiento basal (Tabla 98) Sin embargo, aunque el nivel de N no varió significativamente entre tratamientos de exceso de aporte, la vía de administración foliar causó claros síntomas visuales que indicaron toxicidad del abonado (Figura 37), al observarse entre un 80 - 85 % de hojas con pardeamiento de sus bordes, extendiéndose hacia el interior.

Tabla 98. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de N, P y K (% MS) en de hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 3).

Tratamiento	N				P				K			
	DTPF											
	32	75	107	166	32	75	107	166	32	75	107	166
Control	3,34	2,57	2,47	2,55	0,231	0,179	0,16	0,16	1,08	1,04	1,04	1,32
Tratadas	3,03	2,65	2,66	2,54	0,225	0,180	0,15	0,16	1,19	1,14	1,02	1,31
Significación	ns	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: medias significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración

En el ensayo 5, las aportaciones nitrogenadas hicieron aumentar significativamente ($P \leq 0,05$) la concentración de N en el tejido foliar en 2 de las 3 fechas evaluadas, en comparación al tratamiento basal, comportamiento similar al obtenido a los 75 DTPF, aunque entonces no se detectó efecto significativo de los tratamientos (Tabla 99).

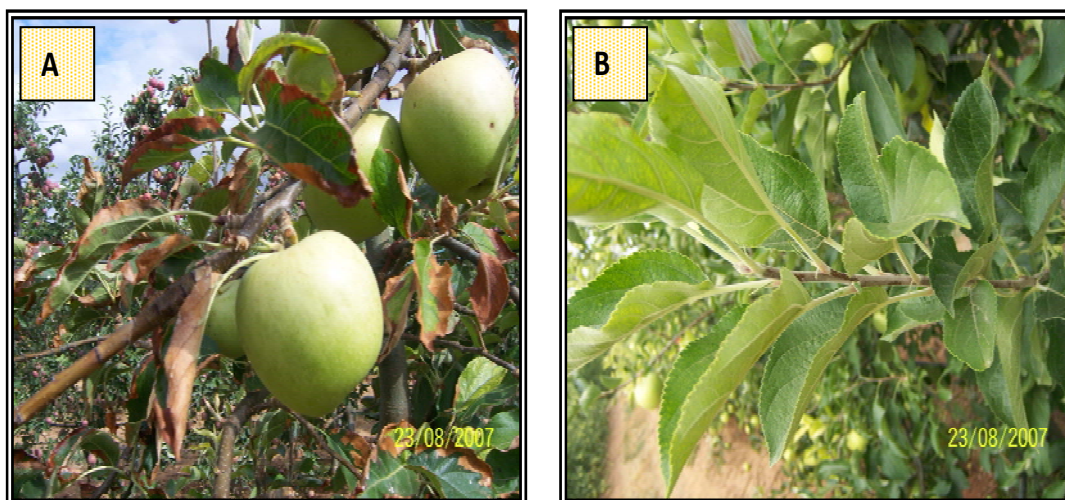


Figura 37. Hojas de árboles de manzano 'Golden Reinders' bajo sobreaportación de 65 UFN ha⁻¹ año⁻¹. A: Sobrefertilización vía foliar. B: Sobrefertilización vía edáfica.

Al estudiar, en este ensayo, si la formulación y la vía de aplicación de los fertilizantes afectaban la concentración de N foliar, no se encontró influencia significativa de estos factores. Además, no se detectaron efectos de interacción significativa entre estos factores en ninguna de las fechas de muestreo).

En la Figura 36 se muestra la concentración de P en cada fecha de muestreo de los ensayo 3 y 5. En ambos casos, los análisis estadísticos demostraron que este elemento siguió una tendencia lineal con el tiempo ($P \leq 0,001$; ensayo 3 y $P \leq 0,05$; ensayo 5) (Tabla 97), aunque en cada punto de muestreo, el exceso de N no indujo variaciones significativas en la concentración de P foliar, respecto a los árboles bajo tratamiento basal (Tablas 98 y 99). Las medidas repetidas en el tiempo indicaron que, sólo en el ensayo 3, la concentración de P varió significativamente ($P \leq 0,001$) entre las fechas de análisis (Tabla 97).

Tabla 99. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de N, P y K (% MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).

	N			P			K		
Tratamientos	DTPF								
	75	120	166	75	120	166	75	120	166
Aportes nitrogenados									
Tb	2,65	2,37	2,07	0,18	0,17	0,17	1,23	1,04	1,08
Aportes	2,77	2,56	2,33	0,17	0,17	0,16	1,27	1,04	1,1
Significación	ns	*	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación									
NH ₄ NO ₃	2,73	2,54	2,33	0,17	0,17	0,16	1,28	0,99	1,11
CO(NH ₂) ₂	2,81	2,58	2,33	0,17	0,17	0,15	1,25	1,08	1,09
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Aplicación									
Edáfico	2,68	2,49	2,28	0,17	0,17	0,15	1,29	1,01	1,08
Foliar	2,87	2,62	2,38	0,17	0,17	0,15	1,24	1,07	1,11
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación									
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns, *: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$, respectivamente.

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Dosis basal.

Para el K, no se encontraron diferencias significativas entre las medias obtenidas en ambos ensayos de sobrefertilización (Tablas 98 y 99), no existiendo efecto de la formulación y ni de la vías de administración de los fertilizantes para el ensayo 5 (Tablas 98 y 99).

La concentración de K fue distinta en función del tiempo de evaluación ($P \leq 0,05$; ensayo 3 y $P \leq 0,001$; ensayo 5) e independiente del tratamiento nitrogenado. Así mismo, dicha concentración disminuyó a lo largo de la temporada siguiendo una tendencia lineal ($P \leq 0,05$; ensayo 3 y $P \leq 0,001$; ensayo 5) (Tabla 97).

En la Figura 38 se muestra la evolución de la concentración el Ca y del Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders', bajo sobrefertilización nitrogenada. El nivel de Ca aumentó significativamente ($P \leq 0,001$) con el tiempo en ambos ensayos siguiendo una tendencia lineal ($P \leq 0,001$) sólo en el ensayo 3. Por el contrario, el Mg disminuyó linealmente en función del tiempo sólo en el ensayo 5 ($P \leq 0,001$) (Tabla 97).

Los análisis estadísticos realizados sobre las medias de los contenidos de Ca y Mg en hojas en cada muestreo, no indicaron existencia de diferencias significativas entre los árboles sobrefertilizados y los testigos, independientemente del ensayo realizado (Tablas 100 y 101).

Tabla 100. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de Ca y Mg (% MS) en de hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas (ensayo 3).

Tratamientos	Ca				Mg			
	DTPF							
	32	75	107	166	32	75	107	166
Control	1,68	1,92	2,39	2,35	0,32	0,32	0,30	0,28
Tratadas	1,72	1,95	2,41	2,68	0,32	0,36	0,33	0,29
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración.

Al estudiar por separado el efecto de la formulación y de la vía de suministro del fertilizante nitrogenado, no detectamos efecto significativo de estos factores sobre las concentraciones foliares de Ca y Mg en ninguna de las fechas de muestreo. Tampoco hubo efecto significativo de la interacción formulación x vía de aplicación en la concentración de estos nutrientes (Tablas 100 y 101).

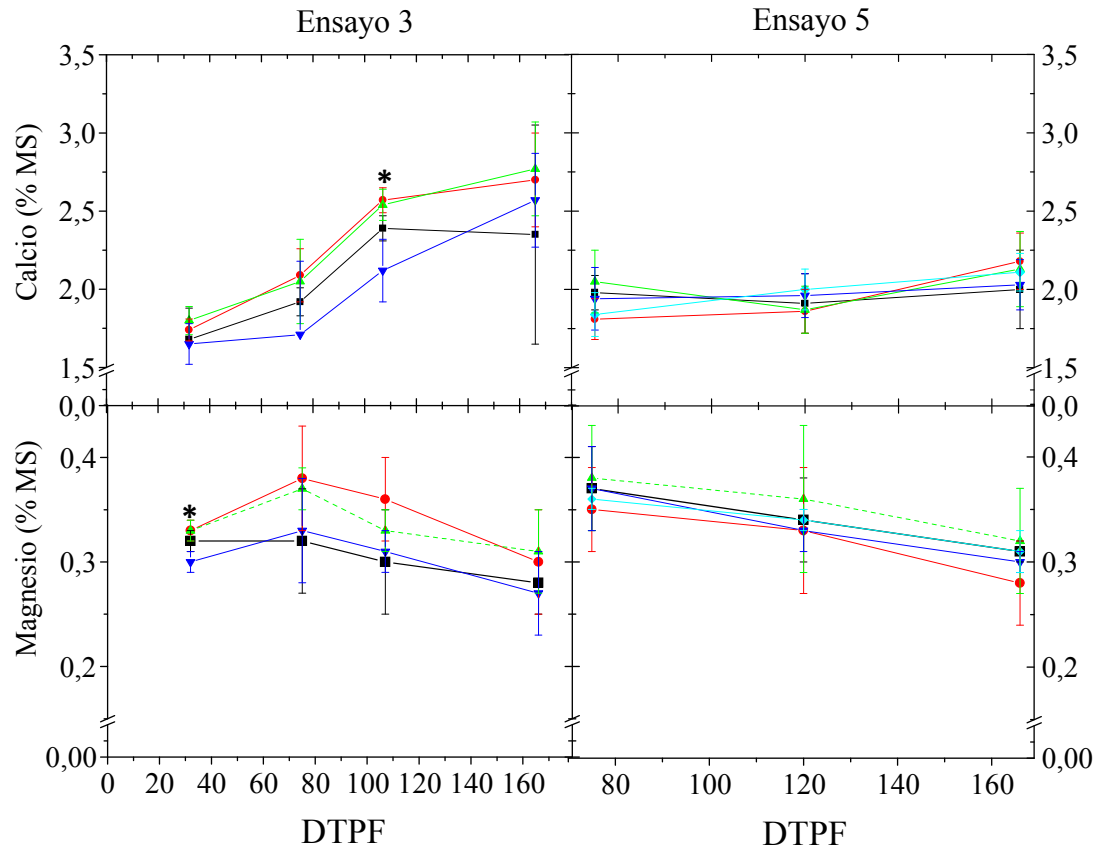


Figura 38. Evolución de la concentración de Ca y Mg en hojas de manzanos 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización nitrogenada.

Ensayo 3 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 65 UFN edáfico —▲— Tb + 87 UFN edáfico
—▼— Tb + 65 UFN foliar).

Ensayo 5 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 32 UFN (NH_4NO_3) edáfico —▲— T b + 32 UFN
 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ edáfico —▼— Tb + 32 UFN (NH_4NO_3) foliar —◆— Tb + 32 UFN
 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ foliar).

Tabla 101. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de Ca y Mg (% MS) en hojas de manzanos 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).

Tratamientos	Ca			Mg		
	DTPF					
	75	120	166	75	120	166
Aportes nitrogenados						
Tb	1,98	2,00	1,91	0,37	0,34	0,31
Aportes	1,91	2,11	1,92	0,36	0,34	0,30
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación						
NH ₄ NO ₃	1,87	2,11	1,91	0,36	0,33	0,29
CO(NH ₂) ₂	1,94	2,12	1,93	0,37	0,35	0,31
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Aplicación						
Edáfico	1,93	2,16	1,87	0,37	0,34	0,30
Foliar	1,90	2,07	1,98	0,36	0,34	0,31
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación						
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración;

Tb: Dosis basal.

Elementos minerales en hoja.

Micronutrientes.

En la Figura 39 se presenta la evolución de la concentración foliar de los 4 microelementos (Fe, Mn, Cu y Zn) estudiados en diferentes fechas durante la ejecución de los ensayos de sobrefertilización (ensayos 3 y 5).

Bajo las condiciones experimentales del ensayo 3, Cu y Zn han sido los únicos micronutrientes evaluados, que han manifestado cambios significativos en su concentración con el avance de la estación ($P \leq 0,001$) a diferencia del ensayo 5 en el que todos los micronutrientes siguieron una tendencia lineal con el tiempo (Tabla 102).

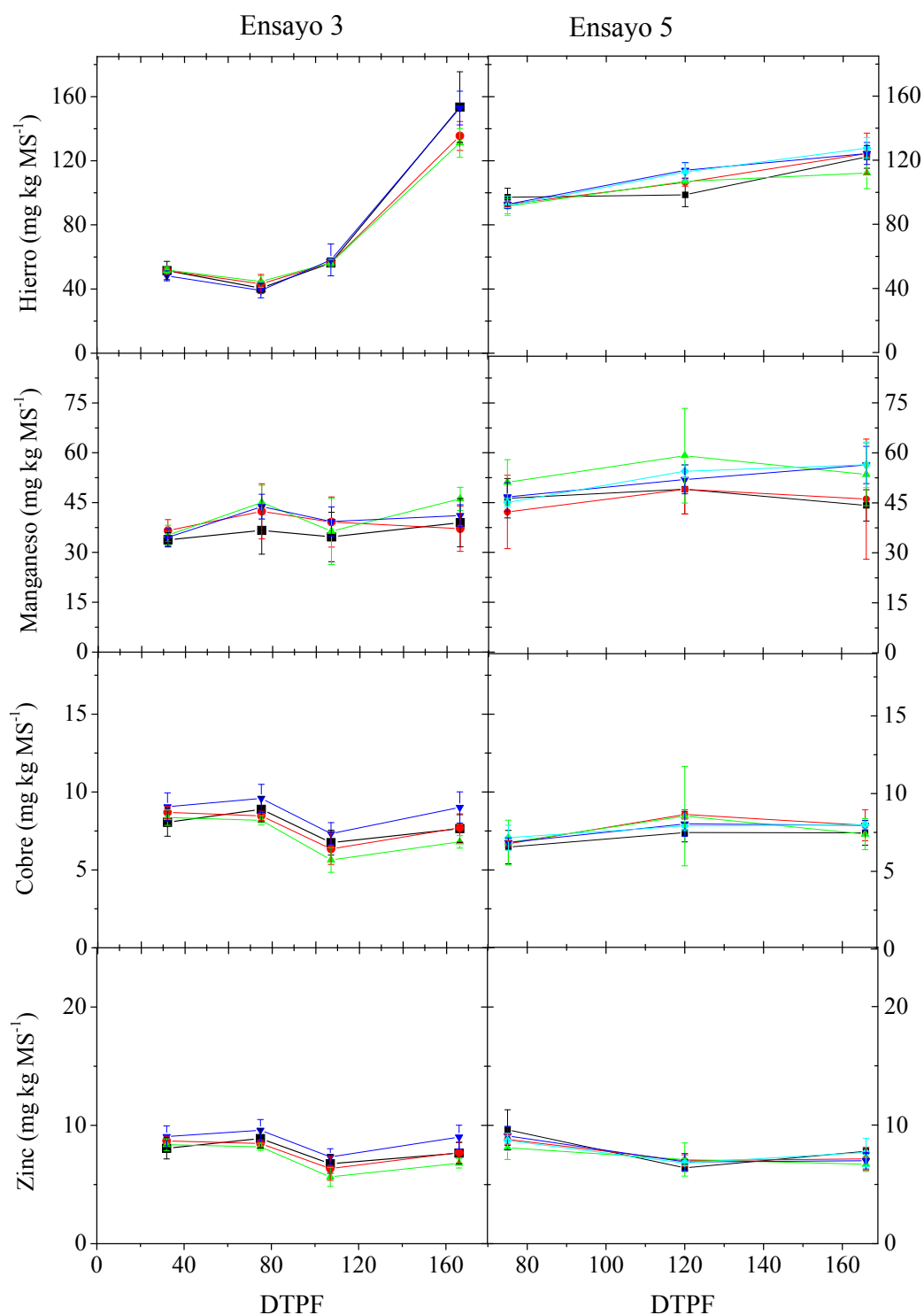


Figura 39. Evolución de la concentración de micronutrientes (Fe, Mn, Cu y Zn) en hojas de manzano 'Golden Reinders' sometidos a sobrefertilización.

Ensayo 3 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 65 UFN edáfico —▲— Tb + 87 UFN edáfico —▼— Tb + 65 UFN foliar).

Ensayo 5 (—■— 32 UFN (Tb) —●— Tb + 32 UFN (NH₄NO₃) edáfico —▲— T b + 32 UFN CO(NH₂)₂ edáfico —▼— Tb + 32 UFN (NH₄NO₃) foliar —◆— Tb + 32 UFN (CO(NH₂)₂) foliar).

Los análisis de medidas repetidas en el tiempo permiten concluir que la concentración de Fe, Cu, Mn, y Zn varía en función de las fechas de muestreo, independientemente del ensayo (Tabla 102). Sin embargo, los resultados indicaron que, dentro de cada muestreo y en ambos ensayos, no existieron diferencias significativas entre las medias de los valores obtenidos en ninguno de los micronutrientes evaluados (Tablas 103 y 104). Sólo el Fe a los 120 DTPF en el ensayo 5 manifestó la influencia de los tratamientos nitrogenados al ser significativamente ($P \leq 0,05$) superior en las plantas tratadas en comparación con el tratamiento basal.

Tabla 102. Tendencia lineal de los micronutrientes con el avance de la estación y la influencia del factor tiempo como medida repetida (Ensayos 3 y 5).

Ensayo 3	Fe	Mn	Cu	Zn
Tendencia lineal	ns	ns	***	***
Tiempo (MR)	***	*	***	***
Ensayo 5				
Tendencia lineal	***	***	***	***
Tiempo (MR)	***	***	*	***

ns, *, ***: no significativo y significativo al nivel $P \leq 0,05$ y $P \leq 0,001$, respectivamente.
MR: Medidas repetidas en el tiempo.

Al estudiar sólo la influencia del exceso de N sobre el contenido de micronutrientes en el ensayo 5, encontramos que no hubo efecto significativo de la formulación, ni de la vía de aplicación de los fertilizantes evaluados. Tampoco hubo efecto de interacción (Tabla 104).

Tabla 103. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) en la concentración de Fe, Mn, Cu y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$ MS) en de hojas de manzano ‘Golden Reinders’ en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 3).

Micronutriente	Fecha (DTPF)	Control	Tratadas	Significación
Fe	32	51,51	50,47	ns
	75	40,52	42,32	ns
	107	77,13	56,97	ns
	166	153,49	139,89	ns
Mn	32	33,80	35,43	ns
	75	36,93	43,74	ns
	107	34,67	38,27	ns
	166	38,96	41,60	ns
Cu	32	9,20	9,48	ns
	75	8,92	9,39	ns
	107	8,17	7,97	ns
	166	7,24	7,82	ns
Zn	32	8,01	8,70	ns
	75	8,89	8,75	ns
	107	6,75	6,44	ns
	166	7,65	7,84	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

Tabla 104. Efecto de la sobrefertilización con diferentes fuentes (NH_4NO_3 y $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$) y formas de aplicación del nitrógeno (foliar y edáfica) sobre la concentración de Fe, Mn, Cu y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}\text{MS}$) en hojas de manzano 'Golden Reinders' en diferentes fechas del ciclo productivo (ensayo 5).

Tratamientos	Fe			Mn			Cu			Zn		
	DTPF											
	75	120	166	75	120	166	75	120	166	75	120	166
Aportes nitrogenados												
Tb	96,95	98,42	122,08	46,38	49,08	44,24	6,56	7,49	7,48	9,60	6,43	7,83
Aportes	91,97	109,83	121,99	46,33	53,67	53,11	6,91	8,31	7,82	8,69	6,95	7,14
Significación	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación												
NH ₄ NO ₃	92,47	109,95	124,19	44,53	50,53	51,24	6,81	8,42	7,96	8,97	6,96	7,08
CO(NH ₂) ₂	91,46	109,72	119,79	48,14	56,81	54,98	7,00	8,23	7,68	8,41	6,94	7,19
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Aplicación												
Edáfico	91,93	106,48	118,10	46,72	54,11	49,83	6,81	8,61	7,67	8,45	7,04	6,92
Foliar	92,00	113,19	125,88	45,95	53,24	56,40	7,00	7,97	7,97	8,93	6,86	7,35
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Formulación x aplicación												
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

*: Medias significativamente diferentes ($P \leq 0,05$).

DTPF: Días tras plena floración.

Tb: Dosis basal.

Elementos minerales en fruto

En las Tablas 105 y 106 se presenta la concentración Ca, K y Mg en pulpa y piel de frutos de manzano 'Golden Reinders' bajo sobrefertilización nitrogenada.

De estos datos se desprende que únicamente el K en pulpa en el ensayo 3, manifestó significativamente ($P \leq 0,05$) la influencia de los tratamientos nitrogenados en el primer muestreo, al ser mayor su concentración en los frutos de los árboles sobrefertilizados foliarmente en comparación con el resto de tratamientos, que se comportaron estadísticamente iguales entre sí.

Tabla 105. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada (NH_4NO_3) sobre la concentración de Ca, K y Mg ($\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ MF) en pulpa y piel de frutos de manzanos 'Golden Reinders' en 2 dos fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 3).

Tratamientos (UFN ha^{-1} año $^{-1}$)	Pulpa				Piel			
	Ca	K	Mg	$\frac{(\text{K}+\text{Mg})}{\text{Ca}}$	Ca	K	Mg	$\frac{(\text{K}+\text{Mg})}{\text{Ca}}$
DTPF								
86								
32 (Tb)	3,2	70,9 b	6,29	24,36	26,8	227,4	96,2	12,6
Tb + 65 UFN edáfico	3,1	78,4 b	6,33	27,65	19,7	199,6	93,6	15,0
Tb + 87 UFN edáfico	3,1	80,0 b	6,34	28,58	23,3	230,0	95,3	14,6
Tb + 65 UFN foliar	3,1	93,6 a	5,74	32,57	29,7	238,8	97,0	11,3
Significación	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
166 (cosecha)								
32 (Tb)	2,1 b	74,6 b	4,2 b	42,8	18,0 b	172,0	42,2 b	12,2 b
Tb + 65 UFN edáfico	1,9 b	70,5 b	4,2 b	39,5	19,8 b	158,1	45,1 ab	10,4 b
Tb + 87 UFN edáfico	2,9 a	74,1 b	4,5 b	27,5	21,8 a	161,2	50,5 a	9,8 c
Tb + 65 UFN foliar	2,2 b	85,5 a	4,9 a	44,9	14,8 c	172,2	39,1 b	14,2 a
Significación	*	*	*	ns	**	ns	**	**

En la misma columna, medias seguidas de igual letra no son significativamente diferente ($P \leq 0,05$); ** $P \leq 0,01$).

UFN: Unidad fertilizante de nitrógeno; Tb: Dosis basal; DTPF: Días tras plena floración.

Tabla 106. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada sobre la concentración de Ca, K y Mg (mg 100 g⁻¹MF) en pulpa y piel de frutos de manzano 'Golden Reinders' en 2 fechas durante el crecimiento del fruto (ensayo 5).

Tratamientos (UFN ha ⁻¹ año ⁻¹)	Ca	K	Mg	$\frac{(K+Mg)}{Ca}$	Ca	K	Mg	$\frac{(K+Mg)}{Ca}$
	DTPF							
	75							
32 UNF (Tb)	3,1	68,2	3,9	24,3	15,5	141,9	22,1	11,3
Tb+ 32 UFN (NH ₄ NO ₃) edáfico	2,7	66,6	4,1	26,9	16,4	132,6	22,9	10,0
Tb+ 32 UFN (CO(NH ₂) ₂) edáfico	2,7	71,9	3,9	29,8	16,5	148,1	23,0	11,0
Tb+ 32 UFN (NH ₄ NO ₃) Foliar	2,3	64,8	3,6	29,9	15,5	139,8	24,7	9,6
Tb+ 32 UFN (CO(NH ₂) ₂) foliar	2,3	68,3	3,7	32,2	17,2	148,2	21,5	10,0
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	166 (Cosecha)							
32 UNF (Tb)	1,1	50,4	2,4	47,6	8,4	106,2	26,3	16,5
Tb+ 32 UFN (NH ₄ NO ₃) edáfico	1,3	55,8	2,7	46,6	7,3	114,1	26,7	23,2
Tb+ 32 UFN (CO(NH ₂) ₂) edáfico	1,8	57,3	2,6	46,7	5,0	112,3	24,7	28,8
Tb+ 32 UFN (NH ₄ NO ₃) foliar	1,2	52,8	2,5	45,2	6,7	111,6	27,0	22,6
Tb+ 32 UFN (CO(NH ₂) ₂) foliar	1,6	58,6	2,7	42,6	6,0	118,2	28,4	37,7
Significación	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns: no significativo ($P \leq 0,05$).

UNF: Unidad fertilizante de nitrógeno

Tb: tratamiento basal.

DTPF: Días tras plena floración.

En recolección, en el ensayo 5, el contenido de nutrientes en los frutos no fue significativamente distinto entre tratamientos (Tabla 106). Sin embargo, en el ensayo 3, hemos observado que la concentración de K y Mg en pulpa ha sido significativamente

($P \leq 0,05$) superior en los árboles sobrefertilizados foliarmente, mientras que el contenido de Ca lo fue para el tratamiento de mayor dosis edáfica (Tb + 87 UFN vía edáfica). El resto de tratamientos no manifestaron diferencias significativas entre sí (Tabla 105).

En piel, igualmente, el exceso de N (Tb + 87 UFN edáfico) provocó que la concentración de Ca y Mg fuese significativamente superior al resto de los tratamientos ($P \leq 0,01$). El K no manifestó influencia estadística de los tratamientos (Tabla 105).

La relación entre los distintos elementos evaluados en fruto $[(K+Mg)/Ca]$ únicamente mostró diferencias significativas ($P \leq 0,01$) en la recolección de 2007 (ensayo 3) al ser el valor de la relación superior en el tratamiento de mayor dosis edáfica (Tb + 87 UFN vía edáfica) (Tabla 105).

Por otra parte, y de manera general, observamos en las Tablas 105 y 106, que los contenidos de Ca, K y Mg descienden a medida que el fruto se desarrolla.

La fertilización es sin duda una de las labores culturales más importantes en los sistemas de producción frutícolas y, tal como señalan Mankin y Fynn (1996), el conocimiento de las necesidades efectivas de nutrientes es esencial para reducir los impactos ambientales negativos de los sistemas de gestión agrícola.

El N es el elemento que produce una respuesta más evidente en la planta, y quizás por ello, los agricultores a fin de garantizar que el suministro cumpla las necesidades de las plantas, suelen aplicarlo en cantidades superiores a los requerimientos, tratando de evitar así el riesgo que puede suponer un déficit.

La explotación comercial del manzano no escapa de esta realidad, y por consiguiente, el N ha constituido la base de los programas de fertilización de ésta especie, razón por la cual ha sido, posiblemente, el elemento mineral más estudiado para este frutal (Nielsen y Nielsen, 2003).

En nuestro trabajo, la influencia de las aportaciones de N sobre el estado nutricional de los árboles cultivados en zonas declaradas por el Gobierno de Aragón como vulnerables a la contaminación de NO_3^- fue mínima, independientemente de la dosis, de la

época de muestreo, de la forma de aplicación, de la formulación química utilizada, del ciclo productivo evaluado y del historial de las aportaciones nitrogenadas previo a la realización de los ensayos. Sin embargo, los resultados no dejaron de ser interesantes.

La aplicación de N a árboles sin aportes previos de N, cultivados en zonas no declaradas como vulnerables a la contaminación por NO_3^- (ensayos en 'Smoothee Golden Delicious') manifestaron su influencia sobre la concentración de N en hojas, al aplicar dosis de N similares o superiores a los requerimientos considerados como óptimos (ensayo 2).

En los ensayos sobre 'Golden Reinders', a pesar de que hubo escaso efecto significativo de los tratamientos sobre la concentración de N foliar, hemos observado que al aumentar la dosis del abonado nitrogenado, la concentración de N en hojas aumenta respecto a los testigos. No obstante, bajo las condiciones de estudio, los resultados igualmente han indicado que los árboles de manzano cuando están fertilizados en exceso por vía edáfica (ensayos 1 y 3) parecen desarrollar un mecanismo de regulación que impide mayor asimilación de N ya que las dosis más altas no producen la mayor acumulación del elemento, aunque hay que mencionar que la disponibilidad de N para las plantas no está definida únicamente por la cantidad de N mineral contenido en la zona de las raíces, sino también por las condiciones del suelo que a su vez definen el crecimiento y la actividad de las raíces (Lemaire y Maynard, 1997). Por el contrario, la adición de N vía foliar aumenta los contenidos de N a pesar de que el balance de N sea muy alto, lo que apoya en cierta forma la existencia de alguna limitación en la absorción de N a nivel de suelo. No obstante, la sobreaportación foliar puede causar síntomas visibles de fitotoxicidad como se observó en el ensayo 3 (Figura 37; Pág. 243), posiblemente como consecuencia del efecto salino (Fageria *et al.*, 2009)

Por otra parte Huett (1996), menciona que la productividad de los cultivos depende de un adecuado estatus de N. Sin embargo, con el exceso de éste elemento no se consigue mayor asimilación. En este sentido, señala que posiblemente exista un mecanismo de realimentación desde los brotes a las raíces que controla la absorción de N en condiciones de exceso.

Aunque se acepta que el consumo de lujo de N sea una respuesta al exceso de N (Smith, 1986; Irizarry *et al.*, 2002; Alva *et al.*, 2006), rara vez se ha llegado experimentalmente a esta situación (Huett, 1996). En este contexto, nuestros resultados indican claramente que cuando adicionamos N en exceso no se presenta un consumo de lujo, sino que su concentración en el tejido foliar tiende a declinar. Tal comportamiento hace pensar que la absorción de N por los árboles de manzano únicamente depende de la demanda o necesidad del cultivo y que, por lo tanto, a pesar de ser el N el elemento más importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, la sobreaportación seguramente se traducirá no en un efecto significativo sobre la acumulación de N ni en la producción, como ya lo hemos discutido anteriormente, sino en un aumento tanto de los costos de producción como en la contaminación del medio ambiente por N.

El aumento significativo de la concentración de N al finalizar el ciclo de cultivo, como respuesta a los aportes nitrogenados en el ensayo 2, indica que, en comparación con los ensayos realizados en las zonas declaradas como vulnerables a la contaminación por NO_3^- , esta es en función de la demanda impuesta por el cultivo y por el grado de contaminación de N presente en el suelo a consecuencia de las malas prácticas agronómicas. En la Figura 30 (ensayo 2) se observa claramente que al finalizar el ensayo, la concentración de N se aumentó en la medida que lo hicieron las dosis aplicadas y, sin embargo, con la mayor dosis ($97 \text{ UFN ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$) pareció haberse marcado el inicio de una relación cuadrática, ya que tal dosis no indujo mayor acumulación del nutriente, sino que la hizo descender.

Diversas investigaciones han sido realizadas, tanto directamente en campo como en condiciones controladas, con miras a determinar la cantidad, el momento y las formas de aplicación de los fertilizantes nitrogenados en árboles de manzanos para hacer un uso más eficiente del N (Fallahi, 1997; Neilsen *et al.*, 2001b; Dong *et al.*, 2005a; Dong *et al.*, 2005b) y sugiriendo diversas estrategias para mejorar el manejo del N. Sin embargo, equilibrar la cantidad de N necesaria para optimizar el crecimiento de las plantas y reducir al mínimo las pérdidas de NO_3^- hacia las aguas superficiales y subterráneas sigue siendo un reto importante para mejorar la eficiencia agrícola en el uso de fertilizantes (Dinnes *et al.*, 2002).

Aún en condiciones de alta disponibilidad externa de N hemos observado, en cada una de las Figuras en las que se representa la evolución del N en función del tiempo, una disminución del N del tejido foliar con el avance de la estación de crecimiento. La causa de estas disminuciones está relacionada con un proceso de dilución a consecuencia del aumento del volumen del árbol (González-Dugo *et al.*, 2010). Así, el N en los árboles se sitúa principalmente en las partes aéreas metabólicamente activas, al ir progresando la estación. Los árboles inician su fase de crecimiento activo aumentando (en peso) la cantidad de tejidos estructurales y de almacenamiento. Como consecuencia, la concentración promedio de N en la planta disminuye (Greenwood *et al.*, 1990; Lemaire y Gastal, 1997).

El resto de elementos minerales evaluados no manifestaron la influencia de los tratamientos y, de forma similar al N, se observó que, las concentraciones de elementos como P, K, Cu y Zn decrecieron con el transcurrir la estación, mientras que la cantidad de otros, como Ca y Fe aumentó. Estos cambios estacionales en la concentración de nutrientes expresados en base a materia seca están en concordancia con lo descrito por otros autores (Cheng y Raba, 2009; Neilsen y Neilsen, 2003) y podrían ser explicados en función de la movilidad de los diversos nutrientes en los órganos. A medida que envejece, el tejido foliar acumula Mg, Ca y otros elementos poco móviles como el Fe, mientras que los más fácilmente traslocables como N, P y especialmente K se redistribuyen hacia las hojas jóvenes disminuyendo su concentración conforme la planta madura (Gil, 1995).

Por otro lado, al comparar las concentraciones de elementos obtenidos, según los análisis de tejidos, con los rangos de suficiencia para el N, P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn descritos por Gagnard (1984) para el manzano, pareciera indicar que el estatus nutricional de los árboles permaneció dentro de los valores considerados como adecuados para el óptimo desarrollo del cultivo excepto en el caso del zinc, que se presentó en concentraciones por debajo del rango óptimo, independientemente del tratamiento aplicado y de la época de muestreo.

Respecto a otros elementos minerales evaluados (Ca, Mg y K), observamos que, de manera general, su concentración desciende durante el desarrollo del fruto; Westwood (1982) señala que la concentración de nutrientes en fruto disminuye con el tiempo debido

a que su velocidad de crecimiento aumenta considerablemente con respecto a la de acumulación de minerales.

Las concentraciones de Ca, K y Mg en fruto parecen estar escasamente afectadas por el aumento en las dosis de N aplicadas. Sin embargo, la escasa influencia de los tratamientos nitrogenados sobre la concentración de éstos elementos la hemos atribuido a efectos de competencia entre las estructuras vegetativas y/o las reproductivas. Así, por ejemplo, el aumento en la concentración de K y Mg en pulpa de fruto de los árboles bajo el tratamiento Tb + 65 UFN foliar (Tabla 105; Pág. 252) en el ensayo 3, pudo ser efecto de la menor productividad y carga de cosecha detectada en tales árboles (Tabla 75; Pág. 196), lo que permitió una mayor disponibilidad de los nutrientes. Por el contrario, los menores contenidos de K y Mg detectados principalmente en la cosecha, en el ensayo 4, pudo ser consecuencia de un efecto de dilución ya que los árboles fertilizados foliarmente con 32 UFN ha⁻¹ año⁻¹ fueron más productivos y los frutos fueron de mayor peso medio (Tabla 74; Pág. 195).

Nava y Dechen (2009) asociaron la disminución en la concentración de Ca en frutos de manzanos 'Fuji' al aumento del desarrollo vegetativo de los árboles causado por los tratamientos nitrogenados. En este sentido, justifican que el N, al promover el crecimiento vegetativo, impulsa más Ca hacia las hojas ya sea porque el nuevo crecimiento necesita de Ca o porque el aumento de la transpiración de las hojas reduce el flujo del xilema hacia los frutos. Sin embargo, en nuestro trabajo, la concentración de Ca en frutos ha sido relativamente significativa con los aportes nitrogenados, resultados que concuerdan con los obtenidos por Neilsen *et al.* (1999) para manzanas 'Gala'.

En las condiciones ensayadas, el exceso de N no contribuyó a una mayor absorción del elemento, por lo que su aplicación en cantidades superiores a las requeridas, sólo puede conducir a una baja eficiencia de recuperación y a problemas asociados con el aumento en los costes de producción y de contaminación ambiental. El hecho de no lograrse acumulaciones significativas en las concentraciones de N foliar a consecuencia de las aportes en exceso de nitrógeno, indica que posiblemente las dosis utilizadas en las zonas de estudio superan al "nivel crítico" de N para el cultivo, aspecto necesario a

considerar en las áreas declaradas como vulnerables a la contaminación por NO_3^- para lograr un mejor uso del N.

Consideraciones finales

El agua y los fertilizantes, en especial el N, son críticos para lograr el nivel de producción agrícola necesario para alimentar la población mundial, en creciente aumento. En este sentido, las investigaciones sobre nutrición hídrica y nitrogenada han sido muy abundantes y, con la finalidad de maximizar la productividad agrícola se han generando, en muchos casos, métodos de producción poco respetuosos con el medio ambiente. Como consecuencia de ello, y desde hace relativamente poco tiempo, se está promoviendo un cambio cualitativo de enfoque de estas líneas de investigación para intentar compatibilizar la productividad agraria con un mínimo impacto ambiental, sin olvidar que el producto cosechado debe satisfacer las expectativas y necesidades de los clientes y del consumidor final.

Esta consideración ha sido la que nos ha impulsado a diseñar los ensayos que se han desarrollado a lo largo de la fase experimental de esta Tesis, con la finalidad de evaluar la respuesta del manzano, bajo las condiciones agroclimáticas del valle del Ebro, a la aplicación de niveles reducidos de riego y a distintas dosis de abono nitrogenado. La pretensión final de este trabajo consiste en conseguir un uso más eficiente de ambos factores, afectando lo menos posible la productividad de los árboles y la calidad del producto final: el fruto.

La introducción del riego deficitario por Chalmers *et al.*, (1981), sirvió para demostrar que es posible controlar el crecimiento vegetativo y mejorar la productividad del agua en frutales, lo que ha propiciado el estudio de esta estrategia de manejo del riego en diferentes especies como el olivo, el melocotonero y el almendro, entre otros (Alegre *et al.*, 1997; Torrecillas *et al.*, 2000; Girona *et al.*, 2003; Romero *et al.*, 2004). Sin embargo, debido a que el manzano es considerado como una especie que difícilmente se adapta a condiciones de deficiencia hídrica (Lakso, 2003), tanto por la fenología del fruto como por su susceptibilidad al estrés hídrico, o quizás por la manera dogmática de ver el riego tradicional como una forma de optimizar la producción, hace que la propuesta de reducir la cantidad de agua al cultivo sea poco aceptada (por los agricultores), por lo que nos encontramos con un vacío de información acerca de respuesta de éste importante cultivo en Aragón y en el mundo a regímenes reducidos de riego bajo manejo comercial en climas semiáridos.

Nuestros resultados han indicado que el riego deficitario aplicado sostenidamente, desde plena floración hasta la recolección, parece ser beneficioso para controlar el crecimiento vegetativo de manzanos 'Golden Reinders' bajo las condiciones de estudio, lo cual, desde el punto de vista de manejo de una plantación comercial, es de crucial importancia ya que permite reducir costes, particularmente los generados por la poda.

En los estudios pioneros acerca del riego deficitario en frutales, un punto clave fue la identificación de una etapa de desarrollo en la que el fruto no tuviese un crecimiento activo o no fuese sensible al estrés, pero que los brotes aún presentasen un crecimiento activo. Esto ocurre en cierto grupo de frutales, como es el caso del melocotonero, donde el desarrollo del fruto viene caracterizado por dos etapas muy activas, separadas por otra de crecimiento lento; este tipo de crecimiento se denomina doble sigmoideo (Lilien-Kipnis y Levee, 1971), en el cual, a lo largo de estos tres períodos, los constituyentes del fruto no se desarrollan simultáneamente (Crane, 1969). La aplicación del riego deficitario únicamente en el estado intermedio de 'reposo', que según dichos autores se produce únicamente durante el endurecimiento del hueso en el que el embrión alcanza sus dimensiones máximas, ha permitido controlar con éxito el crecimiento vegetativo sin afectar sensiblemente la producción y la calidad de las cosechas (Chalmers *et al.*, 1981; Marsal y Girona, 1997).

Este escenario no se produce en el manzano, ya que según Faust (1989) y nuestros resultados, el patrón de crecimiento del fruto sigue un modelo sigmoideo simple, lo que hace generar desconfianza a la hora de aplicar el riego deficitario, por parecer poco probable la posibilidad de ejercer un control efectivo del crecimiento vegetativo sin afectar el crecimiento del fruto (Lakso, 2003). Sin embargo, bajo las condiciones en las que hemos desarrollado nuestros experimentos, al evaluar la influencia del riego deficitario sostenido aplicado en varios años consecutivos sobre los mismos árboles, hemos encontrado que la reducción del aporte hídrico por debajo de la demanda de evapotranspiración desde plena floración hasta la recolección no repercute negativamente sobre el crecimiento del fruto.

Estudios de riego deficitario en manzanos bajo condiciones de campo han demostrado que los efectos de esta estrategia de irrigación sobre el peso de los frutos son

variables (Lötter *et al.*, 1985; Mpelasoka *et al.*, 2000). Sin embargo, en nuestro estudio hemos obtenido que, de ambos regímenes deficitarios de humedad ensayados, la restricción del 25 % de la demanda hídrica de los árboles, además de no alterar el crecimiento de los frutos, tiene escasa influencia sobre la acumulación de materia seca de los frutos, su calibre final, la carga de cosecha, y la productividad de los árboles, en comparación a los plenamente regados, lo que pone en evidencia que es posible mejorar la eficiencia en la utilización cada litro de agua empleado con una adecuada administración del riego deficitario.

La restricción del riego, a pesar de promover un descenso en el potencial hídrico xilemático de los árboles sólo causó ligeras disminuciones en la capacidad fotosintética foliar, lo que nos indica que, bajo las condiciones de estudio, el nivel de estrés que pudo generar esta estrategia de riego no fue lo suficientemente alto como para causar limitaciones estomáticas en la tasa de asimilación de CO₂ de manera categórica. Sólo en el ciclo productivo de 2009 hemos observado que la conductancia estomática pareció imponer cierto control sobre la fotosíntesis como mecanismo de defensa ante la desecación, lo que pudo a su vez acentuar las diferencias de peso entre los frutos y con ello afectar la productividad de los árboles.

Los árboles, en 2009, y a diferencia de los del resto de las temporadas evaluadas, presentaron una producción extremadamente elevada ($\approx 110 \text{ Tm ha}^{-1}$), por lo que es razonable pensar que un nivel de carga tan alto pudo incrementar la sensibilidad del manzano a la insuficiencia hídrica impuesta por los tratamientos deficitarios de humedad, aunque hay que recordar que ésta temporada fue, a su vez, la más seca climatológicamente. Estos resultados ponen de manifiesto que bajo las condiciones de valle del Ebro, el estrés hídrico generado por la aplicación del riego deficitario, por si sólo no suele conllevar a una limitación muy importante de la relación fuente-sumidero.

Además de ahorrar agua y de controlar el crecimiento vegetativo, el riego deficitario se ha utilizado para mejorar la calidad del fruto, incluso en manzanos (Mpelasoka *et al.*, 2000). En nuestros ensayos, al evaluar el efecto de los regímenes deficitarios de humedad sobre la calidad de los frutos encontramos que, en la recolección, la mayoría de los parámetros que la definen se incrementan con la restricción de

humedad, lo que supone un argumento adicional a favor de la implementación de ésta estrategia de riego en las plantaciones comerciales de manzanos. Además, hemos encontrado que el estado nutricional de los árboles, al igual que la concentración mineral en frutos, apenas fue afectado.

Por otra parte, aunque exista información contradictoria acerca de la influencia de la restricción hídrica al manzano y su efecto sobre la incidencia del bitter pit durante el período de almacenamiento, discrepancias que probablemente sean debidas al momento de aplicación del estrés hídrico y/o al modo de transporte del calcio en el árbol, tal y como señalan Behboudian y Mills (1997), nuestros resultados ha mostrado un efecto beneficioso de la restricción hídrica al disminuir la incidencia de bitter pit, tal como lo describe Failla *et al.* (1990).

Los resultados obtenidos a través de estos 4 años de experimentación indican que restringirle al manzano el 25 % de su requerimiento hídrico parece ser útil ya que permite controlar el crecimiento vegetativo de los árboles sin afectar seriamente su producción, mejorar algunos atributos organolépticos de los frutos y disminuir las pérdidas postcosecha a causa de la incidencia de fisiopatías, por lo que puede constituir una esperanzadora alternativa para mejorar la eficiencia en el uso del agua en el cultivo de manzanos, particularmente de 'Golden Reinders', cultivado bajo las condiciones edafoclimáticas del valle del Ebro y en otras áreas de condiciones similares.

Por otra parte, la agricultura moderna requiere de un manejo cada vez más preciso del N debido a que la práctica de una fertilización nitrogenada excesiva, muy común entre los agricultores, conduce a pérdidas económicas por lixiviación de nitratos (González-Dugo *et al.*, 2010) que, a su vez, repercuten negativamente sobre el medio ambiente (Carpenter *et al.*, 1998). Por otro lado, bajo escasez de N, las plantas no expresan totalmente su potencial genético, manifestando además, alteraciones morfológicas y fisiológicas que, igualmente, repercuten, en última instancia, sobre el crecimiento y la producción (Evans, 1989). En consecuencia, la fertilización debe ser lo suficientemente ajustada para proporcionar un rendimiento óptimo y una adecuada calidad final del producto cosechado.

Hemos comprobado que, efectivamente, la fertilización nitrogenada edáfica incrementa la disponibilidad de N mineral en la solución del suelo. Sin embargo, hay que destacar que la acumulación de NO_3^- en el perfil del suelo no ha resultado ser proporcional a la cantidad de N aplicado a través de la fertilización. Además, aunque hay mayor disponibilidad de N-mineral en la solución del suelo, ésta no provoca efectos fuertes sobre el crecimiento.

Este comportamiento de los NO_3^- en la zona no saturada del suelo nos hace proponer la necesidad de estudiar más a fondo, en las condiciones de valle del Ebro y en plantaciones manejadas comercialmente, las relaciones agua-suelo-planta para plantear medidas tendentes a hacer un uso más eficiente del N.

Según Dong *et al.* (2005a), el aporte de N en manzanos se corresponde con un mayor crecimiento en longitud de los brotes. Sin embargo, de nuestros experimentos de fertilización nitrogenada se deriva que, bajo las condiciones de estudio, el crecimiento de los brotes del manzano no manifiesta efectos apreciables entre aportar el fertilizante nitrogenado y no hacerlo, aunque la fertilización foliar tiende a incrementar el crecimiento vegetativo de los árboles en comparación a la vía de suministro edáfica.

Las escasas diferencias significativas detectadas en el resto de las variables vegetativas quizás hayan sido consecuencia más de la variabilidad que de los mismos tratamientos aplicados, ya que en ocasiones, entre muestreos, desaparecían las diferencias detectadas. Únicamente, parece ser que, los brotes terminales tienden a aumentar su grosor con la mayor disponibilidad de N, aunque los resultados indican que con la sobrefertilización foliar excesiva se logra prolongar la longitud y el tiempo de crecimiento de los brotes.

Si bien los brotes terminales detienen su crecimiento longitudinal en un momento del ciclo de cultivo, la capacidad del tejido leñoso para acumular materia seca finaliza más tarde (Priestley, 1970), por lo que continua un crecimiento en grosor (Forshey y Elfving, 1989). Esta particularidad del árbol para iniciar un engrosamiento tras cesar la extensión de los brotes nos hace suponer que con el exceso de fertilización nitrogenada, particularmente cuando se aplica por vía foliar, los árboles, aunque desarrollan mayor masa vegetativa, tienen menor oportunidad de incrementar su vigor, ya que, como hemos

mencionado anteriormente, el crecimiento longitudinal de los brotes se alarga en el tiempo a consecuencia del exceso en el abono nitrogenado.

Ésta tendencia al mayor desarrollo vegetativo con la fertilización nitrogenada foliar supone una pérdida de energía por parte del árbol, que puede incidir negativamente en la producción o en la calidad del producto cosechado, al acentuarse la competencia por carbohidratos entre las estructuras vegetativas y reproductivas, así como en la disponibilidad de los nutrientes y reservas necesarias para satisfacer la respiración de mantenimiento en invierno y la alta demanda del árbol a inicio de primavera. Además, desde el punto de vista económico, con éste mayor desarrollo de la copa del árbol aparentemente lo que se consigue es generar mayor masa de madera de poda, lo que podría incrementar sustancialmente los costes de producción.

Mediante las mediciones de la capacidad fotosintética foliar hemos observado que el aporte de N tiene un efecto promotor de la fotosíntesis en manzanos y, aunque el abonado nitrogenado no produce efectos detectables, en leñosas, como mínimo hasta el tercer año de reiterar los tratamientos sobre los mismos árboles (Marsal *et al.*, 2005), la respuesta parece ser altamente dependiente de la edad de las plantas y del historial de fertilización. Lo que si queda claro es que, la sobrefertilización nitrogenada no genera aumentos en la asimilación de CO₂ lo suficientemente aceptables para justificar la utilización de N en cantidades que pueden ser consideradas como excesivas. Es más, con aportes severos de N, la fotosíntesis en el manzano, tiende a ser inhibida.

La concentración foliar de clorofila (SPAD) suele incrementarse conforme aumenta la disponibilidad de nitrógeno (Nielsen *et al.*, 1995). Sin embargo, en nuestros ensayos, las variaciones en la concentración de clorofila generalmente no se correspondieron con las dosis de nitrógeno utilizadas.

Para la mayoría de los experimentos de fertilización nitrogenada aunque no hemos observado efectos significativos de los tratamientos sobre la concentración de los carbohidratos evaluados, en hojas, los azúcares solubles, de mayor a menor, siempre siguieron el mismo orden: sorbitol, sacarosa, glucosa y fructosa, mientras que, en frutos el mayoritario ha sido la fructosa y el de menor concentración el sorbitol. Al mismo tiempo, detectamos, al menos a nivel foliar, que las fluctuaciones en los niveles de

azúcares solubles son concomitantes con las de almidón y, como es característico de especies leñosas caducifolias, estos carbohidratos tienden a acumularse en el tejido foliar al final del ciclo productivo Worley (1979).

Los tratamientos nitrogenados aplicados, independientemente del ensayo evaluado, apenas incidieron en las dimensiones de los frutos. Quizás esta ausencia de diferencias significativas en el calibre final de los frutos haya sido consecuencia de que el estado de N de los árboles, considerando el rango de suficiencia propuesto por Gagnard (1984), no estuvo en ningún momento bajo condición limitante, independientemente del abonado aplicado.

Los resultados demuestran que la fertilización nitrogenada no tiene efectos considerables sobre los parámetros que definen la productividad de los árboles y la calidad de los frutos aunque, en líneas generales, se produce un retraso en la maduración del fruto a causa de la adición de N. Además de ello, parece ser que con la sobrefertilización foliar severa se recolectan un menor número de frutos, indicando una mayor abscisión fisiológica en estos árboles a causa de una mayor competición como consecuencia del crecimiento extraordinario de la longitud de los brotes.

Si bien las causas que inducen la presencia de bitter pit en las manzanas durante el almacenamiento y su forma de evitarla aún no están completamente definidas, hemos encontrado que la incidencia de ésta fisiopatía está directamente relacionada con los aportes nitrogenados (Raese y Drake, 1997; Raese, 2000).

En general, la concentración de elementos minerales no sufrió alteración por los tratamientos nitrogenados, encontrándose los nutrientes evaluados dentro del rango de valores estándar considerados como normales para hojas de manzanos (Gagnard, 1984), excepto el zinc que presentó concentraciones menores a las del rango óptimo. Además de ello, consideramos importante resaltar que al adicionar el N en exceso no se presenta un consumo de lujo sino que, por el contrario, la concentración de N tiende a declinar. Tal comportamiento hace pensar que la absorción de N por el manzano depende sólo de la demanda o necesidad del cultivo y que, por lo tanto, a pesar de ser el N el elemento más importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, la sobreaportación no se traduce necesariamente en un efecto significativo, ni en la acumulación de N, ni en la

producción, como ya se ha discutido previamente, sino en un aumento en los costes de producción y en la contaminación del medio ambiente.

Los resultados sugieren además que el manzano responde de manera más efectiva al suministro foliar del nitrógeno en comparación a la fertilización edáfica. Asimismo, hemos observado que la respuesta de los árboles a la aplicación foliar de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, tiende a más eficaz en comparación a la de NH_4NO_3 .

En definitiva, nuestros resultados manifiestan que, tanto la aplicación de agua de riego como de N pueden reducirse sin afectar la calidad del fruto ni productividad de los árboles cultivados en las condiciones del valle del Ebro. Sin embargo, se debe seguir estudiando el comportamiento del manzano bajo estrategias de riego deficitario combinadas con la fertilización nitrogenada, con el objetivo de reducir al mínimo el impacto medioambiental de su uso desmedido.

Conclusiones

-
1. El riego deficitario aplicado desde plena floración hasta la recolección, es eficaz para controlar el crecimiento vegetativo de manzanos 'Golden Reinders' bajo las condiciones agroclimáticas del valle del Ebro.
 2. La restricción hídrica moderada ha influenciado levemente los parámetros productivos del manzano en comparación con los árboles regados según los requerimientos hídrico del cultivo (ETc). Esta respuesta pone en evidencia que es posible mejorar la eficacia del uso del agua, en este frutal, mediante el riego deficitario.
 3. Con el riego deficitario se mejoran ciertos atributos de calidad de fruto y disminuyen las mermas postcosecha por alteraciones fisiológicas del fruto como el bitter pit. Únicamente el calibre de los frutos puede estar comprometido. Sin embargo, la reducción del 25 % en el aporte hídrico sobre las necesidades teóricas, a lo largo de la estación de crecimiento de cultivo, permite obtener una alta proporción de frutos de calibre comercial.
 4. En las condiciones de este estudio, la concentración de carbohidratos solubles y almidón en hojas y frutos no está afectada ni por la aplicación de los niveles reducidos de riego, ni por las distintas dosis de abono nitrogenado utilizadas. Es decir, a medio plazo, ni la restricción hídrica, ni el aporte de nitrógeno, alteran los equilibrios fuente-sumidero, bajo las condiciones semiáridas del valle del Ebro.
 5. La restricción del riego, a pesar de promover un descenso en el potencial hídrico xilemático de los árboles, únicamente causó leves disminuciones en la tasa de fotosíntesis foliar, si bien, la severidad de las condiciones climáticas parece condicionar esta respuesta.
 6. El análisis mineral de hojas y frutos revela que las estrategias de riego deficitario y de dosis de nitrógeno, no inducen grandes cambios en el estado nutricional del manzano.

-
7. La fertilización nitrogenada edáfica incrementa la disponibilidad de nitrógeno-mineral en la solución del suelo, aunque la acumulación de nitratos no ha sido proporcional a las dosis de abono aplicadas, que tampoco han inducido efectos, ni en el crecimiento, ni en la productividad del cultivo.
 8. La aplicación foliar de nitrógeno parece ser más efectiva que la edáfica, lo que sugiere que ésta vía de suministro puede ser considerada como alternativa potencial para reducir el lixiviado de N-mineral. Asimismo, los resultados sugieren que la respuesta de los árboles a la aplicación foliar de $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$, tiende a ser más eficaz en comparación a la de NH_4NO_3 .
 9. Cuando se aplica un exceso de fertilización nitrogenada por vía foliar, los árboles tienden a desarrollar mayor masa vegetativa.
 10. El aporte de nitrógeno tiene un efecto promotor de la fotosíntesis en manzano, aunque la respuesta parece ser muy dependiente de la edad de las plantas y de su historial de fertilización.
 11. El exceso de fertilización nitrogenada no genera aumentos en la asimilación de CO_2 que justifiquen su aplicación por encima de los niveles considerados racionales. Es más, los aportes muy altos tienden a inhibir la fotosíntesis en manzano.
 12. En las condiciones del presente estudio, la fertilización nitrogenada no tiene efectos considerables sobre la productividad de los árboles. Sin embargo, con el exceso de fertilización foliar, se recolecta un menor número de frutos, lo que indica una mayor abscisión fisiológica de éstos por desequilibrios en la competición entre órganos que se refleja en el extraordinario crecimiento de la longitud de los brotes.

-
13. La incidencia de bitter pit está directamente influenciada por las dosis de abonado nitrogenado, aunque queda demostrado que el nitrógeno, en las condiciones de estudio, no tiene efectos apreciables en la calidad de fruto del manzano, exceptuando que el exceso de fertilización nitrogenada tiende a producir frutos algo más verdes.
 14. A pesar de ser el nitrógeno el elemento más importante para el crecimiento y desarrollo de las plantas, nuestros resultados hacen pensar que la absorción de éste nutriente por el manzano depende en gran medida de la demanda o requerimientos de árbol. Por lo tanto, es necesario desarrollar ensayos de larga duración, partiendo de plantaciones jóvenes, para determinar las necesidades reales del manzano cultivado bajo las condiciones del valle del Ebro, con la finalidad hacer un uso más eficiente o racional del nitrógeno.
 15. Como conclusión general se puede decir que estos resultados muestran que, tanto la aplicación de agua de riego como de N a manzanos cultivados en el valle medio del Ebro, pueden reducirse sin afectar la producción y la calidad del fruto. Es mas estas reducciones llevan a aminorar el desarrollo de fisiopatías como el bitter pit. Sin embargo, se debe seguir estudiando el comportamiento del manzano y otras especies frutales bajo estrategias de riego deficitario combinadas con otras prácticas culturales, particularmente la fertilización nitrogenada, con el objetivo de reducir al mínimo el impacto medioambiental de su uso desmedido, preservando altas productividades y calidades. Esto permitirá asegurar la rentabilidad económica y bienestar social, en zonas vulnerables con recursos hídricos limitados.

Referencias

-
- Abdoulkarim, E. and V. Solmaz. 2009. Water pricing for agricultural production in the south of Iran. *Water Resources Management*. 23: 957- 964.
- Acevedo, E. 1979. Interacciones suelo agua raíz en el proceso de absorción de agua por las plantas. *Boletín Técnico de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Chile*. 44: 17- 25.
- Acevedo, E., T. Hsiao and D. Henderson. 1971. Immediate and subsequent growth responses of maize leaves to changes in water status. *Plant Physiology*. 48: 631- 636.
- Achard, P., H. Cheng, L. De Grauwe, J. Decat, H. Schoutteten, T. Moritz, D. Van Der Straeten, J. Peng and N. Harberd. 2006. Integration of plant responses to environmentally activated phytohormonal signals. *Science*. 311: 91- 94.
- Agustí, M. 2004. *Fruticultura*. Mundi-Prensa Libros, S.A. Madrid, España. 493 p.
- Alegre, S., J. Girona, J. Marsal, A. Arbones, M. Motilva and M. Romero. 1997. Regulated deficit irrigation in olives trees. *Acta Horticulturae*. 474: 373- 376
- Al-Hinai, Y. and T. Roper. 2004. Rootstock effects on growth, cell number, and cell size of 'Gala' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 129: 37- 41.
- Ali, M. and M. Talukder. 2008. Increasing water productivity in crop production. A synthesis. *Agricultural Water Management*. 95: 1201-1213.
- Allen, R., L. Pereira, D. Raes, and M. Smith. 1998. Crop evapotranspiration: guidelines for computing crop water requeriments. *Irrigation and Drainage Paper 56*. FAO, Rome, Italy. 300 p.
- Alonso, M. 2004. Efectos de la nutrición N, K, Mg en la calidad de las manzanas golden. Tesis presentada para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo. Escuela Universitaria Politecnica "La Amunia de Doña Godina", Zaragoza. España. 108 p.
- Alva, A., S. Paramasivam, T Obreza and A. Schumann. 2006. Nitrogen best management practice for citrus trees: I. fruit yield, quality, and leaf nutritional status. *Scientia Horticulturae*. 107: 233- 244.

-
- Amarante, C., D. Chaves and P. Ernani. 2006. Multivariate analysis of nutritional attributes associated with bitter pit in 'Gala' apples. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 41: 841- 846.
- Amiri, M., E. Fallahi and A. Golchin. 2008. Influence of foliar and ground fertilization on yield, fruit quality, and soil, leaf, and fruit mineral nutrients in apple. *Journal of Plant Nutrition*. 31: 515- 525.
- Anconelli, S., P. Mannini, D. Solimando y G. Guidoboni. 2008. Effetti della gestione irrigua sul melo tramite stress idrico controllato. *Frutticoltura*. 5: 52 -59.
- Antolín, M., M. Ayari, and M. Sanchez-Díaz. 2006. Effects of partial rootzone drying on yield, ripening and berry ABA in potted Tempranillo grapevines with split roots. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 12: 13- 20.
- Armstrong, M., and E. Kirkby. 1979. The influence of humidity on the mineral composition of tomato plants with special reference to calcium distribution. *Plant and Soil*. 52: 427- 435.
- Ashton, P. and G. Berlyn. 1994. A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (section *Erthrobalanus*-Fagaceae) species in different light environments. *American Journal of Botany*. 81: 589- 597.
- Aslam, M., R. Travis and R. Huffaker. 1993. Comparative induction of nitrate and nitrite uptake and reduction systems by ambient nitrate and nitrite in intact roots of ininduced and induced barley (*Hordeum vulgare* L.) seedling. *Plant Physiology*. 102:811- 819.
- Atkinson, C., L. Ruiz and T. Mansfield. 1992. Calcium in the xylem sap and the regulation of its delivery to the shoot. *Journal of Experimental Bototany*. 43: 1315- 1324.
- Atkinson, D. 1974. Some observations on the distribution of root activity in apple trees. *Plant and Soil*. 40: 333- 342.
- Azcón-Bieto, J., I. Fleck, X. Aranda y A. Xambó. 2000. Fotosíntesis en un ambiente cambiante. In: *Fundamentos de fisiología vegetal*. Azcón-Bieto, J., y M. Talón (Eds). McGraw-Hill Interamericana. Barcelona, España. pp. 213- 216.

-
- Aznar, Y. 2001. Caracterización fisiológica del "biter pit". Aspectos nutricionales, fenológicos y métodos de diagnóstico. Tesis presentada para obtener el título de Doctor en Ciencias. Departamento de Nutrición Vegetal de la Estación Experimental de Aula Dei. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Zaragoza. España. 250 pp.
- Baeza, P., P. Sánchez-de-Miguel, A. Centeno, P. Junquera, R. Linares and J. Lissarrague. 2007. Water relations between leaf water potential, photosynthesis and agronomic vine response as a tool for establishing thresholds in irrigation scheduling. *Scientia Horticulturae*. 114: 151- 158.
- Bañón, S., J. Fernández, J. Franco, A. Torrecillas, J. Alarcón y M. Sánchez-Blanco. 2004. Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. *Scientia Horticulturae*. 101: 333- 342.
- Barber, S. 1962. Diffusion and mass-flow concept of soil nutrient availability. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 93: 39- 49.
- Barceló, J., G. Nicolás, B. Sabater y R. Sánchez. 2005. Fisiología Vegetal. Ed. Pirámide, Madrid, España. 566 p.
- Barden, J. and G. Neilsen. 2003. Selecting the orchard site, site preparation and orchard planning and establishment. In: Apples botany, production and uses. Ferree, D. and J. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp 237- 265.
- Barden, J., J. Cline, M. Kushad and M. Parker. 2002. Various measures of tree vigor, yield, and efficiency of apple trees in the 1990 NC-140 systems trial as influenced by location, cultivar and orchard system. *Journal of the American Pomology Society*. 56: 208- 214.
- Barker, R., D. Dawe and A. Inocencio. 2003. Economics of water productivitis in managing water for agriculture. In: Water productivity in agricultura. Limits and opportunities for improvement. Kigne, J., R. Barker and D. Molden (Eds). CAB Internacional. London, UK. pp. 19- 36.

-
- Barley, K. 1970. The configuration of the root system in relation to nutrient uptake. *Advances in. Agronomy*. 22: 159- 201.
- Bar-Tal, A., M. Keinan, S. Fishman, B. Aloni, Y. Oserivitz, M. Genard and B. Baryosef. 1999. Simulation of environmental effects on Ca content in pepper fruit. *Acta Horticulturae*. 507: 253- 262.
- Barritt, B., C. Rom, B. Konishi, and M. Dilley. 1991. Light level influences spur quality and canopy development and light interception influence fruit production in apple. *HortScience* 26:993-999.
- Basso, C. and A. Suzuki. 1992 Resposta da macieira cv. Golden Delicious à adubação nitrogenada. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 16: 223- 227.
- Behboudian, M., G. Lawes and K. Griffiths. 1994. The influence of water deficit on water relations, photosynthesis and fruit growth in Asian pear (*Pirus serotina* Rehd.) *Scientia Horticulturae*. 60: 89- 99.
- Behboudian, M. and T. Mills. 1997. Deficit irrigation in deciduous orchards. *Horticultural Reviews*. 21: 105- 131.
- Belaygue, C., J. Wery, A. Cowan and F. Tardieu. 1996. Contribution of leaf expansion, rate of leaf appearance and stolon branching to growth of plant leaf area under water deficit in white clover. *Crop Science*. 36: 1240- 1246.
- Benegas, M. y A. Rodríguez. 2007. Factores que afectan el porcentaje de fruta asoleada en manzano cv en el alto Valle del Río Negro y Neuquén. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*. 36(1): 131- 146.
- Bengston, C., Larsson S. and C. Liljenberg. 1978. Effects of water stress on cuticular transpiration rate and amount and composition of epicuticular wax in seedlings of six oat varieties. *Physiologia Plantarum*. 44: 319- 324.
- Beruter, J. 1985. Sugar accumulation and changes in the activities of related enzymes during development of the apple fruit. *Journal of Plant Physiology*. 121: 331- 341.
- Bhat, K. 1983. Nutrient inflows into apple roots. *Plant and Soil*. 71: 371- 380.

-
- Blanco-Brana, A., J. Jackson. 1982. Transport of NAA applied to the cut surfaces of pruned apple branches. *Journal of Horticultural Science*. 57: 31-44.
- Blanke, M. 2009. Regulatory mechanisms in source sink relationships in plant. A review. *Acta Horticulturae*. 835: 13- 20.
- Blum, A. 1989. Osmotic adjustment and growth of barley genotypes under drought stress. *Crop Science*. 29: 230- 233.
- Bohnert, H., D. Nelson and R. Jensen. 1995. Adaptations to environmental stresses. *Plant Cell*. 7: 1099- 1111.
- Bohnert, H. and R. Jensen. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends Biotechnology*. 14: 89- 97.
- Boland, A., P. Mitchell, P. Jerie and I. Goodwin. 1993. The effect of regulated deficit irrigation on tree water use and growth of peach. *Journal of Horticultural Science*. 68: 261- 274.
- Boland, A., P. Jerie, P. Mitchell and I. Goodwin. 2000. Long-term effect of restricted root volume and regulated deficit irrigation on Peach: I. Growth and mineral nutrition. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 125: 135- 142.
- Boletín oficial del estado. 2008. El Valle del Ebro. Ministerio de la Presidencia. Disponible en: <http://www.boe.es/g/es/> (Consulta del 11/12/2008).
- Bondada, R., P. Petracek, J. Syvertsen and G. Albrigo. 2006. Cuticular penetration characteristics of urea in citrus leaves. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 81: 219- 224.
- Bonilla, I. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. In: *Fundamentos de fisiología vegetal*. Azcón-Bieto, J., y M. Talón (Eds). McGraw-Hill Interamericana. Barcelona, España. pp. 83- 112.
- Boussadia, O., K. Steppe, H. Zgallai, S. Ben El Hadj, M. Braham, R. Lemeur and M. Van Labeke. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate

-
- status and biomass production in two olive cultivars 'Meski' and 'Koroneiki'. *Scientia Horticulturae*. 123: 336- 342.
- Boyer, J. 1982. Plant productivity and environment. *Science*. 218: 443- 448.
- Boyer, J. 1985. Water transport. *Annual review of plant physiology*. 36: 473- 516.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248- 254.
- Bray, E. 1993. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiology*. 103: 1035- 1040.
- Bray, E. 1997. Plant responses to water deficit. *Trends in Plant Science*. 2: 48- 54.
- Brett, C. and K. Waldron. 1990. *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. Academic Division of Unwin Hyman. Ltd. London, U.K. 208 p.
- Brun, C., J. Raese and E. Stahley. 1985. Seasonal response of anjou pears trees to different irrigation regimes. I. Soil moisture, waters relation, tree and fruit- growth. . *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 110: 830- 834.
- Buccheri, M. and C. Di Vaio. 2004. Relationship among seed number, quality, and calcium content in apple fruits. *Journal of Plant Nutrition* 27: 1735- 1746.
- Burg, M. and J. Ferraris. 2008. Intracellular organic osmolytes: Function and regulation. *Journal of Biological Chemistry*. 283: 7309- 7313.
- Cai, X. and M. Rosegrant. 2003. World water productivity: Current situation and future options In: *Water productivity in agricultura. Limits and opportunities for improvement*. Kigne J., R. Barrer and D. Molden (Eds). CAB Internacional. London, UK. pp. 163- 178.
- Carlsson, R. and R. Rom. 1987. *Rootstocks for fruit crops*. John Wiley and Sons. New York, EEUU. 494 p.
- Carpenter, S. and N. Smith. 1975. Stomatal distribution and size in southern appalachian hardwoods. *Canadian Journal of Botany*. 53: 1153- 1156.

-
- Carpenter, S., N. Caraco, D. Correll, R. Howarth, N. Sharpley and V. Smith. 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorous and nitrogen. *Ecological Applications*. 8: 559- 568.
- Carrasco, O. 2003. El portainjerto M9 y sub-clones de mayor relevancia. *Revista Fruticola*. 24: 41- 50.
- Carrera, M. 1999. Variedades y calidad de las manzanas en Aragón. Unidad de Fruticultura. SIA-DGA. (Ed). Zaragoza, España. 45 p.
- Caspari, H., M. Behboudian and D. Chalmers. 1994. Water use, growth and fruit yield of 'Hosui' Asian pears under deficit irrigation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 119: 383- 388.
- Castel, J. 1994. Responses of yung clementine citrus trees to drip irrigation. I. Irrigation amount and number of drippers. *Journal of Horticultural Science*. 3: 481- 489.
- Cayón, G. 2001. Evolución de la fotosíntesis, transpiración, y clorofila durante el desarrollo de la hoja de plátano (*Musa AAB* Simmonds). *Infomusa* 10, 12-15.
- CEE. 1991. Directiva del Consejo de 12 de diciembre de 1991, relativa a la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos utilizados en la agricultura. 91 / 676 / CEE.
- Centritto, M., F. Loreto and K. Chartzoulakis. 2003. The use of low [CO₂] to estimate diffusional and non-diffusional limitations of photosynthetic capacity of salt-stressed olive saplings. *Plant Cell and Environment*. 26: 585- 594.
- Chalmers, D., P. Mitchell and L. Heek 1981. Control of peach tree growth and productivity by regulated water supply, tree density, and summer prunnig. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 106: 307- 312.
- Chalmers, D., K. Olson and T. Jones. 1983. Waters relations of peach trees and orchards. In: *Water deficits and plant growth*. Vol 3. T. Kosloswki (Ed.). Academic Press. New York, EEUU. pp. 197- 232.

-
- Chalmers, D., G. Burge, P. Jerie and P. Mitchell. 1986. The mechanism of regulation of "bartlett" pear fruit and vegetative growth by irrigation withholding and regulated deficit irrigation. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 111: 904-907.
- Chan, W., C. Chong and C. Taper. 1972. Sorbitol and other carbohydrate variation during growth and cold storage of McIntosh apple fruits. *Canadian Journal of Plant Science*. 52:743- 750.
- Chartzoulakis, K., B. Noitsakis and I. Therios. 1993. Photosynthesis, plant growth and dry matter distribution in kiwifruit as influenced by water deficits. *Irrigation Science*. 14: 1- 5.
- Chaves, M. 1991. Effects of water deficits on carbon assimilation. *Journal of Experimental Botany*. 42: 1- 16.
- Chaves, M., J. Pereira, J. Maroco, M. Rodrigues, C. Ricardo, M. Osorio, I. Carvalho, T. Faria and C. Pinheiro. 2002. How Plants Cope with Water Stress in the Field?. Photosynthesis and growth. *Annals of Botany*. 89: 907- 916.
- Chazen, O. and P. Neumann. 1994. Hydraulic signals from the roots and rapid cell-wall hardening in growing maize (*Zea mays* L.) leaves are primary responses to polyethylene glycol-induced water deficits. *Plant Physiology*. 104: 1385- 1392.
- Cheng, L. and L.H. Fuchigami. 2000. Rubisco activation state decreases with increasing N content in apple leaves. *Jouranl of Experimental Botany*. 51: 1687- 1694.
- Cheng, L. and L. Cheng. 2004. Photosynthetic enzymes and carbohydrate metabolism of apple leaves in response to nitrogen limitation. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 79: 923- 929.
- Chiu, T. and C. Bould. 1977. Sand-culture studies on the calcium nutrition of young apple tree with particular reference to bitter pit. *Journal of Horticultural Science*. 52: 19- 28.
- Ciampi, S., E. Gentili, L. Guidi, G. Soldatini. 1996. The effect of nitrogen deficiency on leaf gas exchange and chlorophyll fluorescence parameters in sunflower. *Plant Science*. 18: 177- 184.

-
- Clark, J. and J. Levitt. 1956. The basis of drought resistance in the soybean plant. *Physiolgia Plantarum*. 9: 598- 606.
- Cline, J. and E. Hanson. 1992. Relative humidity around apple fruit influences its accumulation of calcium. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 117: 542- 546.
- Cmelik, Z., S. Tojnko and T. Unuk. 2006. Fruit quality of 'Fuji' apple as affected by crop load and rates of nitrogen. *Acta Horticulturae*. 721:147- 152.
- Comité Inter-Instituts. 1969. Métodos de referencia para la determinación de elementos minerales en vegetales. *Anales de Edafología y Agrobiología*. 38: 403- 417.
- Coque, M., M. Díaz y J. García. 1996. El cultivo del manzano en Asturias. Centro de Investigación Aplicada y Tecnología Agroalimentaria. Principado de Asturias. Consejería de Agricultura. España. 223 p.
- Cornic, G. 2000. Drought stress inhibits photosynthesis by decreasing stomatal aperture - not by affecting ATP synthesis. *Trends in Plant Science*. 5: 187- 188.
- Cosgrove, D. 1997. Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 13: 171- 201.
- Crane, J. 1969. The role of hormones in fruit set and development. *Horticultural Science*. 4: 108- 111.
- Crassweller, R., H. Braun, T. Baugher, G. Greene, R. Hollendar. 1991. Color evaluations of '*Delicious*' strains. *Fruit Varieties Journal*. 45: 114 -120.
- Crisosto, C., R. Johnson and T. DeJong. 1997. Orchard factors affecting postharvest stone fruit quality. *HortScience*. 32: 820- 823.
- Cruz, J. 2001. Efeitos de níveis de nitrato sobre o metabolismo do nitrogênio, assimilação do CO₂ e fluorescência da clorofila *a* em mandioca. (Tese de doutorado). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Cruz, J., P. Mosquim, C. Pelacani, W. Araújo and F. DaMatta. 2003. Photosynthesis impairment in cassava leaves in response to nitrógeno deficiency. *Plant and Soil*. 257: 417- 423.

-
- Daniell, J. 1982. Effect of trickle irrigation on the growth and yield of "Loring" peach trees. *Journal of Horticultural Science*. 57: 393- 399.
- Davies, F. and A. Lakso. 1979. Diurnal and seasonal changes in leaf water potential components and elastic properties in response to water stress in apple trees. *Physiologia Plantarum*.46: 109-114.
- De la Hera, M., P. Romeroa, E. Gómez-Plazab and A. Martineza. 2007. Is partial root-zone drying an effective irrigation technique to improve water use efficiency and fruit quality in field-grown wine grapes under semiarid conditions? *Agricultural Water Management*. 87: 261- 274.
- De Souza C., J. Maroco, T. dos Santos, M Rodrigues, C. Lopes, J. Pereira and M. Chaves. 2003. Partial rootzone drying: regulation of stomatal aperture and carbon assimilation in field-grown grapevines (*Vitis vinifera* cv. Moscatel). *Functional Plant Biology*. 30: 653- 662.
- De Swaef, T., K. Steppe and R. Lemeur. 2009. Determining reference values for stem water potential and maximum daily trunk shrinkage in young apple trees based on plant responses to water deficit. *Agricultural Water Management*. 96: 541- 550.
- DeJong, T. and Y. Grossman. 1994. A supply and demand approach to modeling annual reproductive and vegetative growth of deciduous fruit trees. *HortScience* 29: 1435- 1442.
- Demmig-Adams, B. and W. Adams.1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 43: 599- 626.
- Dinnes, D., L. Karlen, D. Jaynes, T. Kaspar, J. Hatfield, T. Colvin and C. Cambardella. 2002. Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile-drained Midwestern soils. *Agronomy Journal*. 94: 153- 171.
- Dennis, F. 2003. Flowering, pollination and fruit set and development. In: Apples, botany, production and uses. Ferree, D. and J. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp 153-166.

-
- Diez, J., R. Roman, R. Caballero and A. Caballero. 1997. Nitrate leaching from soils under a maize-wheat-maize sequence, two irrigation schedules and three types of fertilisers. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 65: 189- 199.
- Dixon, J. and E. Hewett. 1998. Temperature affects postharvest colour change of apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123: 305- 310.
- Djakovic-Petrovic T., M. de Wit, L. Voesenek and R. Pierik. 2007. DELLA protein function in growth responses to canopy signals. *Plant Journal*. 51: 117- 126.
- Dong, S., L. Cheng, C. Scagel and L. Fuchigami. 2004. N uptake, soil retention and loss of soil-applied $^{15}\text{NH}_4$ $^{15}\text{NO}_3$ in young Fuji/M.26 apple trees with different N status. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 79: 395- 399.
- Dong, S., L. Cheng, C. Scagel and L. 2005a. Method of nitrogen application in summer affects plant growth and nitrogen uptake in autumn in young Fuji/M.26 apple trees. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 36: 1465 -1477.
- Dong, S., L Cheng, C. Scagel and L. Fuchigami. 2005b. Timing of urea application affects leaf and root N uptake in young Fuji/M.9 apple trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 80: 116-120.
- dos Santos, T., C. Lopes, M. Rodrigues, C. Souza, J. Maroco, J. Pereira, S. Silva and M. Chaves. 2003. Partial rootzone drying: effects on growth and fruit quality of field-grown grapevines (*Vitis vinifera*). *Functional Plant Biology*. 30: 663- 671.
- Drahorad, W. and M. Aichner. 2001 Development and evaluation of a bitter pit prognosis model in apple orchards in the south Tyrol (northern Italy). *Acta Horticulturae*. 564: 91- 96.
- Drake, S., J. Rease and T. Smith. 2002. Time of nitrogen application and its influence on 'golden delicious' apple yield and fruit quality. *Journal of Plant Nutrition*. 25: 143- 157.
- Dris, R., R. Niskanen and E. Fallahi. 1998. Nitrogen and calcium nutrition and fruit quality of commercial apple cultivars grown in Finland. *Journal of Plant Nutrition*. 21: 2389- 2402.

-
- Dry, P., and B. Loveys. 1999. Grapevine shoot growth and stomatal conductance are reduced when part of the root system is dried. *Vitis*. 38: 151- 156.
- Dubé, P., K. Stevenson, G. Thurtell and R. Hunter. 1975. Effects of water stress on leaf respiration, transpiration rates in the dark and cuticular resistance to water vapour diffusion of two corn inbreds. *Canadian Journal of Plant Science*. 55: 565- 572.
- Ebel, R., E. Proebsting and M. Patterson. 1993. Regulated deficit irrigation may alter apple maturity, quality, and storage life. *HortScience*. 28: 141- 143.
- Ebel, R., E. Proebsting and R. Evans. 2001. Apple tree and fruit responses to early termination of irrigation in a semi-arid environment. *HortScience*. 36: 1197- 1201.
- Ehlers W. and M. Goss. 2003. *Water Dynamics in Plant Production*. CABI Publishing. Wallingford. Oxon, U.K. 273 p.
- Einhorn, T. and H. Caspari. 2004. Partial rootzone drying and deficit irrigation of ‘Gala’ apples in a semi-arid climate. *Acta Horticulturae*. 664: 197- 204.
- Eissenstat, D., C. Wells and L. Wang. 2001. Root efficiency and mineral nutrition in apple. *Acta Horticulturae*. 564:165 -184.
- English, M. 1990. Deficit irrigation. I: Analytical framework. *Journal of Irrigation and Drainage Engineering-asce*. 116: 399- 412.
- English, M., J. Musich and V. Murty. 1990. Deficit irrigation. In: *Management of Farm Irrigation Systems*. G. Hoffman, T. Howell and K. Solomon (Eds.). ESAE, St. Joseph, Missouri, EEUU. pp 631-663.
- English, M. and S. Raja. 1996. Perspectives on deficit irrigation. A review. *Agricultural Water Management*. 32: 1- 14.
- Ernani P. and J. Dias. 1999. Soil nitrogen application in the spring did not increased apple yield. *Ciencia Rural*. 29: 645- 649.
- Ernani, P., D. Rogeri, M. Proenca, and J. Dias. 2008. Addition of nitrogen had no effect on yield and quality of apples in an high density orchard carrying a dwarf rootstock. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 30(4): 1113- 1118.

-
- Erf, J. and J. Proctor. 1987. Changes in apple leaf water status and vegetative growth as influenced by crop load. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 112: 617- 620.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of Seed Plants*. 2da ed. Wiley. Nueva York, EEUU. 550 p.
- Espada, J. L. 2002. El nitrógeno en la fertilización razonada de frutales: Producción, calidad de fruta y medio-ambiente. *Informaciones Técnicas, D.G.T.-C.T.A. nº 119*. 16 p.
- Evans, J. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. *Oecologia*. 78: 9- 19.
- Fageria, N., M. Barbosa Filho, A. Moreira and C. Guimaraes. 2009. Foliar fertilization of crop plants. *Journal of Plant Nitrition*. 32: 1044- 1064.
- Failla, O., C. Poma and I. Mignani. 1990. Water status, growth and calcium nutrition of apple trees in relation to bitter pit. *Scientia Horticulturae*. 42: 55- 64.
- Failla, O., G. Zocchi, C. Treccani, and S. Cocucci. 1992. Growth, development and mineral content of apple fruit in different water status conditions. *Journal of Horticultural Science* 67: 265- 271.
- Fallahi, E. and B. Simons. 1996. Interrelations among leaf and fruit mineral nutrients and fruit quality in 'Delicious' apples. *Journal of Tree Fruit Production*. 1: 15- 25.
- Fallahi, E. 1997. Preharvest nitrogen optimization for maximizing yield and postharvest fruit quality of apples. *Acta Horticulturae*. 448. 415- 419.
- Fallahi E., W. Colt, and B. Fallahi 2001a. Optimum ranges of leaf nitrogen for yield, fruit quality, and photosynthesis in 'BC-2 Fuji' apple. *Journal of the American Pomological Society*. 55: 68- 75.
- Fallahi, E., W. Colt, B. Fallahi and I. Chun. 2001b. Influence of different rates of nitrogen on fruit quality, yield and photosynthesis of 'Fuji' apple *Acta Horticulturae*. 564: 261- 268.

-
- Fallahi, E., H. Khemira, T. Righetti and A. Azarenko. 2002. Influence of foliar application of urea on tree growth, fruit quality, leaf minerals, and distribution of urea-derived nitrogen in apples. *Acta Horticulture*. 594: 603- 610.
- Fan, L., R. Linker, S. Gepstein, E. Tanimoto, R. Yamamoto and P. Neumann. 2006. Progressive inhibition by water deficit of cell wall extensibility and growth along the elongation zone of maize roots is related to increased lignin metabolism and progressive stelar accumulation of wall phenolics. *Plant Physiology*. 140: 603- 612.
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). 2003. Gestión del agua: hacia el 2030. Departamento de Agricultura y Protección al Consumidor. 4 p.
- Farquhar, G. and T. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 33: 317- 345.
- Faust, M. 1989. Physiology of temperate zone fruit trees. John Wiley & Sons, Inc., New York. EEUU. 338 p.
- Fereres, E. Goldhamer and L. Parsons. 2003. Irrigation water management of horticultural crops. *HortScience*. 38: 1036- 1042.
- Fereres, E. and M. Soriano. 2007. Deficit irrigation for reducing agricultural water use. *Journal of Experimental Botany*. 58: 147- 159.
- Ferguson, I. and C. Watkins. 1983. Cation distribution and balance in apple fruit in relation to calcium treatments for bitter pit. *Scientia Horticulturae*. 19: 301- 310.
- Ferguson, I., R. Volz and A. Woolf. 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 15: 255- 262.
- Ferreira, R., G. Sellés, J. Peralta and J. Valenzuela. 2004. Effect of water stress applied at different development periods of Cabernet Sauvignon grapevine on production and wine quality. *Acta Horticulturae*. 646: 27- 33.
- Ferreira, E., R. Selles and G. Lemus. 2002. Efecto del estrés hídrico durante la fase II de crecimiento del fruto del duraznero cv. Kakamas en el rendimiento y estado hídrico de las plantas. *Agricultura técnica*. 62: 565- 573.

-
- Ferris, R., I. Nijs, T. Behaeghe, and I. Impens. 1996. Elevated carbon dioxide and temperature have different effects on leaf anatomy of perennial ryegrass in spring and summer. *Annals of Botany*. 78: 489- 497.
- Flexas, J. and H. Medrano. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*. 89: 183- 189.
- Flexas, J., J. Bota, F. Loreto, G. Cornic and T. Sharkey. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*. 6: 269- 279.
- Forshey, C. 1982. Effects of fruiting, pruning, and nitrogen fertilization on shoot growth of 'empire' apples tree. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 107: 1092- 1097.
- Forshey, C. and D. Elfving. 1989. The relationship between vegetative growth and fruiting in apple trees. *Horticulturae Review*. 11: 229- 287.
- Fraser, L., A. Greenall, C. Carlyle, R. Turkington and C. Ross. 2009. Adaptive phenotypic plasticity of *Pseudoroegneria spicata*: response of stomatal density, leaf area and biomass to changes in water supply and increased temperature. *Annals of Botany*. 103: 769- 775.
- Frederick, D. and A. Lakso. 2006. Diurnal and seasonal changes in leaf water potential components and elastic properties in response to water stress in apple trees. *Physiologia Plantarum*. 46: 109- 114.
- Fry, S. 1989. The structure and functions of xyloglucan. *Journal of Experimental Botany*. 40: 1- 12.
- Fry, S. 2004. Primary cell wall metabolism: tracking the careers of wall polymers in living plant cells. *New Phytologist*. 161(3): 641- 675.
- Fuentes, J. 2003. Técnicas de riego. Mundi-prensa Libros S.A. 4ta Edición. Madrid. España. 482 p.

-
- Gagnard, J. 1984. Apples. In: Plant analysis as a guide to the nutrient requirements of temperate and tropical crops. P. Martin-Prevel, J. Gagnard, P. Gautier, J. Benton and M. Holmes (Eds.). Lavoisier Publishing Inc. New York, EEUU. pp. 207- 222.
- Gaitán, J., E. Penón y M. Costa. 2005. Distribución de raíces finas de *Eucalyptus globulus* ssp. *maidenii* y su relación con algunas propiedades del suelo. *Ciencia Florestal*. 15: 33- 41.
- Gales, K. 1979. Effects of water supply on partitioning of dry matter between roots and shoots in *Lolium perennis*. *Journal of Applied Ecology*. 16: 863- 867.
- Galloway, J., J. Aber, J. Erisman, S. Seitzinger, R. Howarth, E. Cowling, B. Cosby. 2003. The nitrogen cascade. *BioScience* 53: 341- 356.
- Gil. F. 1995. Elementos de fisiología vegetal. Relaciones hídricas. Nutrición mineral. Transporte. Metabolismo. Mundiprensa. Madrid.
- Gil-Pelegrín, E., I. Aranda, A. Vilagrosa y J. Peguero-Pina. 2005. El continuo suelo-planta-atmósfera como un modelo integrador de la ecofisiología forestal. *Investigación agraria. Sistemas y Recursos Forestales*. 13: 358- 370.
- Giráldez, J., K. Vanderlinden y H. ten Berge. 1999. La evaporación del agua del suelo bajo control atmosférico. In: Estudios en la zona no saturada del suelo. R. Muñoz-Carpena, A. Ritter Rodríguez y C. Tascón Rodríguez. (Eds) *Actas de las IV Jornadas sobre Investigación de la Zona no Saturada del Suelo*. pp. 181- 186.
- Girona, J., M. Mata, D. Goldhamer, R. Johnson and T. DeJong. 1993. Patterns of soil and tree water status and leaf functioning during regulated deficit irrigation scheduling in peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 118: 580- 586.
- Girona, J., M. Mata, A. Arbonès, J. Simó Alegre and J. Marsal. 2003. Peach tree response to single and combined regulated deficit irrigation regimes under shallow soils. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 128: 432- 440.
- Girona, J., J. Marsal, M. Mata, A. Arbones and T. DeJong. 2004. A comparison of the combined effect of water stress and crop load on fruit growth during different phenological stages in young peach trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 79: 308- 315.

-
- Girona, J., M. Gelly, M. Mata, A. Arbone's, J. Rufat, J. Marsal. 2005. Peach tree response to single and combined deficit irrigation regimes in deep soils. *Agricultural Water Management*. 72: 97- 108.
- Goday, A. y M. Pagés. 2004. Proteínas de respuesta al estrés hídrico. In: *La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis*. M. J. Reigosa, N. Pedrol y A. Sánchez (Eds.). Thompson Editores. Paraninfo S.A. Madrid, España. pp. 791- 832.
- Goldhamer, D., M. Salinas, C. Crisosto, K. Day, M. Soler and A. Moriana. 2002. Effects of regulated deficit irrigation and partial root zone drying on late harvest peach tree performance. *Acta Horticulturae*. 592: 343- 350.
- González-Dugo, V., J. Durand and F. Gastal. 2010. Water deficit and nitrogen nutrition of crops. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. DOI: 10.1051/agro/2009059.
- Gowing, D., W. Davies and H. Jones. 1990. A positive root-sourced signal as an indicator of soil drying in apple, *Malus x domestica* Borkh. *Journal of Experimental Botany*. 41: 1535- 1540.
- Green, S. and K. McNaughton. 1997. Modelling effective stomatal resistance for calculating transpiration from an apple tree. *Agricultural and Forest Meteorology*. 82: 1- 26.
- Greene, D. and W. Lord. 1983. Effects of dormant pruning, summer pruning, scoring, and growth regulators on growth, yield, and fruit quality of 'Delicious' and 'Cortland' apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108: 590- 595.
- Greene, D. 1991. Reduced rates and multiple sprays of paclobutrazol control growth and improve fruit quality of 'Delicious' apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116: 807- 812.
- Greenwood, D., G. Lemaire, G. Gosse, P. Cruz, A. Draycott and J. Neeteson. 1990. Decline in percentage N of C3 and C4 crops with increasing plant mass. *Annals of Botany*. 66: 425- 436.

-
- Guelfar-Reich, S., R. Assaf, B. Bravdo and I. Levin. 1974. Keeping quality of apples in storage as affected by different irrigation regimes. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 49:217- 225.
- Guidi, L., G. Loreface, A. Pardossi, F. Malorgio, F. Tognoni, G. Soldatini. 1998. Growth and photosynthesis of *Lycopersicum esculentum* (L.) plants as affected by nitrogen deficiency. *Biologia Plantarum*. 40: 235- 244.
- Guo, S., Y. Zhou, Y. Gao, Y. Li and Q. Shen. 2007. New insights into the nitrogen form effect on photosynthesis and photorespiration. *Pedosphere* 17: 601- 610.
- Hatem Zgallai, H., K. Steppe and R. Lemeur. 2005. Photosynthetic, physiological and biochemical responses of tomato plants to polyethylene glycol-induced water deficit. *Journal of Integrative Plant Biology*. 47: 1470- 1478.
- Hayashi, T., Y. Wong and G. MacLachlan. 1984. Pea xyloglucan and cellulose II. Hydrolysis by pea endo-1,4- β -glucanases. *Plant Physiology*. 75:605- 610.
- Haynes, R. and K. Goh. 1980. Variation in the nutrient content of leaves and fruit with season and crown position for two apple varieties. *Australian Journal of Agricultural Research*. 31: 739- 748.
- Hermans, C., J. Hammond, P. White and N. Verbruggen. 2006. How do plants respond to nutrient shortage by biomass allocation? *Trends in Plant Science*. 11: 611- 617.
- Hetherington, A., and F. Woodward. 2003. The role of stomatal in sensing and driving environmental changes. *Nature*. 224: 901- 908.
- Higgs, K. and G. Jones. 1991. Water relations and cropping of apple cultivars on a dwarfing rootstock in response to imposed drought. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 66: 367- 379.
- Hill, J. 1980. The remobilization of nutrients from leaves. *Journal of Plant Nutrition*. 2: 407- 444.
- Hill-Cottingham, D. and C. Lloyd-Jones. 1975. Nitrogen-15 in apple nutrition investigations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 26: 165- 173.

-
- Himelrick, D. and R. Mc Duffie. 1983. The calcium cycle: Uptake and distribution in apple trees. *HortScience*. 18: 147- 151.
- Hooijdonk, B., K. Dorji, M. Behboudian. 2004. Responses of 'Pacific Rose'TM apple to partial rootzone drying and to deficit irrigation. *European Journal of Horticultural Science*. 69: 104- 110.
- Hook, J. 1983. Movement of phosphorous and nitrogen in soil following application of municipal wastewater. En: *Chemical mobility and reactivity in soil Systems*. Nelson, D. (Ed). Soil Science Society of America, Madison, Wis. pp. 241- 255.
- Hsiao, T. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*. 24: 519- 570.
- Hsiao, T. y E. Acevedo. 1974. Plant responses to water deficits, water-use efficiency, and drought resistance. *Agricultural Meteorology*. 14: 59- 84.
- Huett, D. 1996. Prospects for manipulating the vegetative-reproductive balance in horticultural crops through nitrógeno nutrition: a review. *Australian Journal of Agricultural research*. 47: 47- 66.
- Iglesias, I., J. Carbó, P. Vilardell y J. Bonany. 2007. Últimos avances en innovación varietal en manzano. *Vida Rural*. 54- 60.
- Ingestad, T. 1979. Nitrogen stress in birch seedlings.2. N, K, P Ca and Mg. *Physiolgia Plantarum*. 45: 149- 157.
- Intrigliolo, D. and J. Castel. 2007. Crop load affects maximum daily trunk shrinkage of plum trees. *Tree Physiology*, 27: 89- 96.
- Intrigliolo, D., and J. Castel. 2009. Response of *Vitis vinifera* cv Tempranillo to partial rootzone drying in the field: Water relations. growth, yield and fruit and vine quality. *Agricultural Water management*. 96: 282- 292.
- Irizarry, H., R. Goenaga and U. Chardón. 2002. Nitrogen fertilization in babana grown on a highly weathered soil of the humid mountain region of Puerto Rico. *Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*. 86: 15- 26.

-
- Irving, D. and J. Drost. 1987. Effects of water deficit on vegetative growth, fruit growth and fruit quality in Cox's Orange Pippin apple. *Journal of Horticultural Science*. 62: 427- 432.
- Jackson, R. and M. Caldwell. 1993. The scale of nutrient heterogeneity around individual plants and its quantification with geostatistics. *Ecology*. 74: 612- 614.
- Jackson, J. 2003. *Biology of Apples and Pears*. Cambridge University Press. U.K. 488 p.
- Jalali, M. 2005. Nitrates leaching from agricultural land in hamadan wester Iran. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 110: 210- 218.
- Jang, J., and J. Sheen. 1994. Sugar sensing in higher plants. *Plant Cell*. 6: 1665- 1679.
- Javadi, t. and K. Arzani. 2008. Study of proline, soluble sugar, and chlorophyll a and b changes in nine asian and one european pear cultivar under drought stress. *Acta Horticulturae*. 769: 241- 246.
- Jifon, J., J. Sylvertsen and E. Whaley. 2005. Growth environment and leaf anatomy affect nondestructive estimates of chlorophyll and nitrogen in citrus sp. leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 130: 152- 158.
- Johnson, D. 1980. Influence of phosphorus sprays on the storage quality of apples. *Acta Horticulturae*. 92: 327- 328.
- Johnson, D., M. Marks and K. Pearson. 1987. Storage quality of Cox's Orange Pippin apples in relation to fruit mineral composition during development. *Journal of Horticultural Science*. 62: 17- 25.
- Johnson, R., R. Rosecrance, S. Weinbaum, H. Andris and J. Wang. 2001. Can we approach complete dependence of foliar-applied urea nitrogen in an early-maturing peach?. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126: 364- 370.
- Jordão, P., F. Calouro and L. Duarte. 2008. Nitrogen and Boron Fertilization of Pear Orchards of the Portuguese Cultivar 'Rocha'. *Acta Horticulturae*. 800: 555- 560.

-
- Kang, S., X. Hua, I. Goodwinb and P. Jerie. 2002. Soil water distribution, water use, and yield response to partial root zone drying under a shallow groundwater table condition in a pear orchard. *Scientia Horticulturae*. 92: 277- 291.
- Keller, M. 2005. Deficit Irrigation and vine mineral nutrition. *American Journal of Enology and Viticulture*. 56: 267- 283.
- Khan, S., R. Rose, D. Haase, T. Sabin. 1996. Soil water stress: Its effects on phenology, physiology, and morphology of containerized Douglas-fir seedlings. *New Forests* 12: 19- 39.
- Khemira, H., T. Righetti, and A. Azarenko. 1998. Nitrogen partitioning in apple as affected by timing and tree growth habit. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 73: 217- 223.
- Kijne, J., R. Barker and D. molden. 2003. Improving water productivity in agriculture. In *Water productivity in agricultura. Limits and opportunities for improvement*. Kigne J., R. Barrer and D. Molden (Eds). CAB Internacional. London, U.K. pp. xi- xix.
- Kilili, A., M. Behboudian and T. Mills. 1996a. Water relations, photosynthesis, growth, and yield of 'Braeburn' apples under reduced irrigation applied at different stages of the growing season. *Gartenbauwissenschaft*. 61: 267- 273.
- Kilili, A., M. Behboudian and T. Mills. 1996b. Composition and quality of 'Braeburn' apples under reduced irrigation. *Scientia Horticulturae*. 67: 1- 11.
- Kirkby, E. and D. Pilbeam. 1984. Calcium as a plant nutrient. *Plant Cell Environ*. 7: 397- 405.
- Kladivko, E., G. Van Scoyoc, E. Monke, K. Oates and W. Pask. 1991. Pesticide and nutrient movement into subsurface tile drains on a silt loam soil in Indiana. *Journal of Environment Quality*. 20: 264- 270.
- Knoche, M., P. Petracek and M. Bukovac. 1994. Urea penetration of isolated tomato fruit cuticles. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 19: 761-764.

-
- Koch, K. 1996. Carbohydrate-modulated gene expression in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 47: 509- 540.
- Kotliar, N. and J. Wiens. 1990. Multiple scales of patchiness and patch structure: a hierarchical framework for the study of heterogeneity. *Oikos*. 59: 253- 260.
- Kozaki, A. and G. Takeba. 1996. Photorespiration protects C₃ plants from photooxidation. *Nature*. 384: 557- 580.
- Kozlowski, T. 1984. Plant responses to flooding of soil. *BioScience*. 34: 162- 167.
- Kramer, P. 1983. Water relations of plants. Academic Press, New York. 489 p.
- Kuepper, G. 2003. Foliar Fertilization. National Sustainable Agriculture Information Service. C.T.135. 10 pp. ATTRA Publication.
- Kytö, M., P. Niemela, E. Annila and M. Varama. 1999. Effects of forest fertilization on the radial growth and resin exudation on insect-defoliated Scots pines. *Journal of Applied Ecology*. 36: 763- 769.
- Lakso, A., L. Corelli Grappadelli, J. Barnard, and M. Goffinet. 1995. An expolinear model of growth pattern of apple fruit. *Journal of Horticultural Science*. 70: 389- 394.
- Lakso, A. 2003. Water relations in apple. In: Apples, botany, production and uses. Ferree, D. and J. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp 167- 194.
- Lamsfus, C., B. Lasa, P. Aparicio-Tejo e I. Irigoyen. Flexas. 2004. Implicaciones ecofisiológicas y agronómicas de la nutrición nitrogenada. In: La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis. M. J. Reigosa, N. Pedrol and A. Sánchez (Eds.). Thompson Editores. Paraninfo S.A. Madrid, España. pp. 361- 385.
- Landsberg, J. and H. Jones. 1981. Apple orchards. In: Water deficits and plant growth. Vol. 4. T. Koslowski (ed.) Academic Press. New York, EEUU. pp. 419- 469.
- Larcher, W. 1995. *Physiological Plant Ecology*. 3rd Edition. Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg. 506 p.

-
- Lattanzi, F., H. Schnyder and B., Thornton. 2004. The sources of carbon and nitrogen supplying leaf growth. Assessment of the role of stores with compartmental models. *Plant Physiology*. 137: 383- 395.
- Lawlor, D. and G. Cornic. 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell and Environment*. 25: 275- 294.
- Lawlor, D. 2002. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: Mechanisms are the key to understanding production systems. *Journal of Experimental Botany*. 53: 773- 787.
- Le Rudulier, D., A. Strom, A. Dandekar L. Smith, and R. Valentine. 1984. Molecular biology of osmoregulation. *Science*. 224: 1064- 1068.
- Leib B., H. Caspari, R. Cristoti, A. Preston and J. Jabro. 2006. Partial rootzone drying and deficit irrigation of ‘Fuji’ apples in a semi-arid climate. *Irrigation Science*. 24: 85- 99.
- Lemaire, G. and F. Gastal. 1997. N uptake and distribution in plant canopies, in: Lemaire G. (Ed.), *Diagnosis on the nitrogen status in crops*, Springer-Verlag, Heidelberg. pp. 3- 43.
- Lemaire, G. and J. Meynard. 1997. Use of the nitrogen nutrition index for the analysis of agronomical data in: Lemaire G. (Ed.), *Diagnosis of the nitrogen status in crops*, Springer-Verlag, Heidelberg, pp. 45- 55.
- León, A. 1991. Caracterización agroclimática de la Provincia de Huesca. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de la Producción Agraria. 2^{da} Edición. Madrid, España. pp. 29- 53.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. 2nd edition. Volume 1. Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Academic Press. London, U.K. 497 p.
- Li, S., J. Huguet and P. Schoch. 1989. Response of peach tree growth and cropping to soil water deficit at various phenological stages of fruit developement. *Journal of Horticultural Science*. 64: 541- 552.

-
- Lilien-Kipnis, H. and S. Lavee. 1971. Anatomical changes during development of 'Ventura' peach fruits. *Journal of Horticultural Science*. 46: 103- 110.
- Lindorf, H., L. Parisca y P. Rodríguez. 1991. *Botánica. Clasificación, Estructura y Reproducción*. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 584 p.
- Lo Bianco, R., M. Policarpo and L. Scariano. 2003. Effects of rootstock vigour and in-row spacing on stem and root growth, conformation and dry-matter distribution of young apple trees. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 78: 828-836.
- Loescher, W., G. Marlow and R. Kennedy. 1982. Sorbitol metabolism and sink-source interconversions in developing apple leaves. *Plant Physiology*. 70: 335- 339.
- Lopes, C., J. Vicente-Paulo, T. dos Santos, M. Rodrigues, J. Barroso y M. Chaves. 2001. An attempt to quantify grapevine water stress in a mediterranean. In " *Proceedings XIIth Journées GESCO*". pp. 43-48. (AGRO Montpellier: Montpellier).
- López, G., A. Arbones, J. Del Campo, M. Mata, X. Vallverdu, J. Girona and J. Marsal. 2008. Responses of peach tree to regulated deficit irrigation during stage II of fruit development and summer pruning. *Spanish Journal of Agricultural Research* 6: 479-491.
- Loreto, F., M. Centritto and K. Chantzoulakis. 2003. Photosynthetic limitations in olive cultivars with different sensitivity to salt stress. *Plant Cell and Environment*. 26: 595-601.
- Lötter, J., D. Beukes and H. Weber. 1985. Growth and quality of apples as affected by different irrigation treatments. *Journal of Horticultural Science*. 60: 181- 192.
- Lu, C. and J. Zhang. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Horticultural Science*. 50: 1199- 1206.
- Luby, J. 2003. Taxonomic classification and brief history. In: *Apples, botany, production and uses*. Ferree, D. and J. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp 1-14.
- Ma, S. and H. Bohnert. 2007. Integration of *Arabidopsis thaliana* stress-related transcript profiles, promoter structures, and cell-specific expression. *Genome Biology*. 8:R9.

-
- Makino, A. and B. Osmond. 1991. Effects of nitrogen nutrition on nitrogen partitioning between chloroplasts and mitochondria in pea and wheat. *Plant Physiology*. 96: 355-362.
- Makino, A. 1994. Biochemistry of C₃-photosynthesis in high CO₂. *Journal of Plant Research*. 107: 79- 84.
- Malaguti, D., P. Millard, R. Wendler, A. Hepburn and M. Tagliavini. 2001. Translocation of amino acids in the xylem of apple (*Malus domestica* Borkh) trees in spring as a consequence of both N remobilization and root uptake. *Journal of Experimental Botany*. 52: 1665- 1671.
- Malaguti, D., A. Rombola, M. Quartieri, A. Lucchi, C. Inderst, B. Marangoni and M. Tagliavini. 2006 Effects of the rate of nutrients by fertigation and broadcast application in 'gala' and 'fuji' apple. *Acta Horticulturae*. 721: 165- 172.
- Maldonado, J., E. Agüera y R. Pérez-Vicente. 2000. Asimilación del nitrógeno y del azufre. In: *Fundamentos de fisiología vegetal*. Azcón-Bieto, J., y M. Talón (Eds). McGraw-Hill Interamericana. Barcelona, España. pp. 235- 246.
- Mankin, K. and R. Fynn. 1996. Modeling individual nutrient uptake by plants: Relating demand to microclimate. *Agricultural Systems*. 50: 101- 114.
- Marengo, R., S. Antezana-Vera and H. Nascimento. 2009. Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and *SPAD-502* readings in six Amazonian tree species. *Photosynthetica*. 47: 184- 190.
- MARM (Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino). 2010. Anuario de estadística 2008. Madrid, España. Disponible en: http://www.mapa.es/estadistica/pags/anuario/2008/Anuario_2008.pdf (Consulta del 16/02/2010).
- Maroco, J., M. Rodrigues, C. Lopes and M. Chaves. 2002. Limitations to leaf photosynthesis in field-grown grapevine under drought-metabolic and modelling approaches. *Functional Plant Biology*. 29: 451: 459.

-
- Marsal, J. and J. Girona. 1997. Relationship between leaf water potential and gas exchange activity at different phenological stages and fruit loads in peach trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 122: 415- 421.
- Marsal, J., M. Mata, A. Arbones, J. Rufat J. Girona. 2002. Regulated deficit irrigation and rectification of irrigation scheduling in young pear trees: an evaluation based on vegetative and productive response. *European Journal of Agronomy* 17: 111- 122.
- Marsal, J., J. Girona, M. Gelly, J. Rufat, J. del Campo, A. Arbonés y M. Mata. 2005. Respuesta del Manzano Golden a diferentes dosis de nitrógeno. *Fruticultura Profesional*. 155: 6- 15.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press. 2da ed. London. 889 pp.
- Martin. J. and B. Juniper. 1970. The cuticles of plants. Edward Arnold, London, U.K. 347 p.
- Masek, T., J. Schepers, S. Mason and D. Francis. 2001. Use of precision farming to improve applications of feedlot waste to increase nutrient use efficiency and protect water quality. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 32: 1355- 1369.
- Massacci, A. and H. Jones. 1990. Use of simultaneous analysis of gas-exchange and chlorophyll fluorescence quenching for analysing the effects of water stress on photosynthesis in apple leaves. *Tree Structure and Function*. 4: 1- 8.
- Mataa, M., 2000. Performance of some apple cultivars under tropical Zambian conditions. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 75: 346- 349.
- Mathews, C., K. Van Holde y K. Ahern. 2002. *Bioquímica*, 3ª Edición, Pearson Educacion. S. A. Madrid. España. 1368 p.
- Mayoral, D. 2003 Efecto del abonado nitrogenado y potásico sobre el desarrollo del bitter pit en manzano. Tesis presentada para optar al título de ingeniero agrónomo. Universitat de Lleida. Escola Técnica Superior d'Enginyeria Agrària. 154 p.
- McCue, K. and A. Hanson. 1990. Drought and salt tolerance: towards understanding and application. *Trends in Biotechnology*. 8: 358- 362.

-
- McDermitt, D. 1990. Sources of error in the stimulation of stomatal conductance and transpiration from porometer data. *HortScience*. 25: 1538- 1548.
- McKown, C. and R. McClure. 1988. Development of accelerated net nitrate uptake. *Plant Physiology*. 87: 162- 166.
- Médiène, S., L. Pagès, M. Jordan, J. Le Bot and S. Adamowicz. 2002. Influence of nitrogen availability on shoot development in young peach trees [*Prunus persica* (L.) Batsch]. *Trees*. 16: 547- 554.
- Medjdoub, R. 2003. Evaluación del Prohexadione-Ca para el control del crecimiento en manzano: efectos agronómicos y fisiológicos. Tesis presentada para obtener el título de Doctor en Ciencias. Departamento de Pomología de la Estación Experimental de Aula Dei. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Zaragoza. España. 250 pp.
- Medjdoub, R., J. Val and A. Blanco. 2005. Inhibition of vegetative growth in red apple cultivars using prohexadione-calcium. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 80: 263- 271.
- Medjdoub, R., J. Val and A. Blanco. 2007. Physiological effects of prohexadione-calcium in apple trees: effects of parameters related to photoproduktivty. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 82: 126- 132.
- Medrano, H. y J. Flexas. 2004. Relaciones hídricas de las plantas. In: La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis. M. J. Reigosa, N. Pedrol and A. Sánchez (Eds.). Thompson Editores. Paraninfo S.A. Madrid, España. pp. 1141- 1174.
- Medrano, H., J. Bota, J. Cifre, J. Flexas, M. Ribas-Carbó y J. Gulías. 2007. Eficiencia en el uso del agua por las plantas. *Investigaciones Geográficas*. 43: 63- 84.
- Meheriuk, M., G. Nielsen and E. Hogue. 1992. The influence of nitrogen fertilization, season of application, and orchard floor management on fruit quality and leaf mineral content of “Golden Delicious” Apple trees. *Fruit Varieties Journal*. 46: 71- 75.
- Mehouachi, J., D. Serna, S. Zaragoza, M. Agusti, M. Talon and E. Primo-Millo. 1995. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Science*. 107: 189- 197.

-
- Mengel, K. 2002. Alternative or complementary role of foliar supply in mineral nutrition of plants. *Acta Horticulturae*. 594: 33- 47.
- Meyer, R. and J. Boyer. 1981. Osmoregulation, solute distribution, and growth in soybean seedlings having low water potentials. *Planta*. 151: 482- 489.
- Millar, P. and G. Neilsen G. 1989. The influence of nitrogen supply on the uptake and remobilization of stored N for the seasonal growth of apple trees. *Annals of Botany*. 63: 301- 309.
- Miller, D. 1986. Root systems in relation to stress tolerance. *HortScience*. 21: 963- 970.
- Miller, A., and M. Cramer. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil*. 274: 1- 36.
- Miller, H. and J. Miller. 1987. Nutritional requirements of Sitka spruce. *Proceeding of the Royal Society Edinburgh B*. 93: 75- 83.
- Mills, T., M. Behboudian and B. Clothier. 1997. The diurnal and seasonal water relations, and composition, of 'Braeburn' apple fruit under reduced plant water status. *Plant Science*. 126: 145- 154.
- Mitchell P., B. Vandenende, P. Jerie and D. Chalmers. 1989. Responses of bartlett pear to withholding irrigation, regulated deficit irrigation and tree spacing. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 114: 15- 19.
- Mitchell, P. and D. Chalmers. 1982. The effect of reduced water supply on peach tree growth and yields. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 107: 853- 856.
- Mitchell, P., P. Jerie and D. Chalmers. 1984. Effects of regulated water deficits on pear tree growth, flowering, fruit growth and yield. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109: 604- 606.
- Mix, G.P., Marschner, H., 1976. Calciumgehalte in Früchten von Paprika, Bohne, Quitte und Hagebutte im Verlauf des Fruchtwachstums. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie*. 139: 537- 549.

-
- Monge, E., J. Val, M. Sanz, A. Blanco y L. Montañés. 1994. El calcio nutriente para las plantas. Bitter pit en manzanos. *Anales de la Estación Experimental de Aula Dei*. 21: 189- 201.
- Monge, E., J. L. Espada, A. Blanco y J. Val. 2007. Efecto de la sobrefertilización nitrogenada en la calidad de las manzanas. *Actas de Horticultura. II Jornadas del Grupo de Fertilización* 49: 195-201.
- Moravie, M., M. Durand, and F. Houllier. 1999. Ecological meaning and predictive ability of social status, vigour and competition indices in a tropical rain forest (India). *Forest Ecology and Management*. 117: 221- 240.
- Morgan, M. and M. Hennerty. 1975. Seasonal changes in foliar mineral concentrations of four apple cultivars. *Sci. Proc. Royal Dublin Soc. Ser. 3*: 331- 340.
- Morgan, J. 1984. Osmoregulation and water stress in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 35: 299- 319.
- Mpelasoka, S., M. Behboudian, J. Dixont, S. Neal and H. Caspari. 2000. Improvement of fruit quality and storage potential of 'Braeburn' apple through deficit irrigation. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 75: 615- 621.
- Mpelasoka, B., M. Behboudian and T. Mills. 2001a. Water relations, photosynthesis, growth, yield and fruit size of 'Braeburn' apple: Responses to deficit irrigation and to crop load. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 76: 150- 156.
- Mpelasoka, S., M. Behboudian and S. Green. 2001b. Water use, yield and fruit quality of lisimeter-grown apple trees: Responses to deficit irrigation and to crop load. *Irrigation Science*. 20: 107- 113.
- Mulholland, B., M. Fussell, R. Edmondson, I. Burns, J. McKee and J. Basham. 2000. Effect of humidity and nutrient feed K/Ca ratio on physiological responses and the accumulation of dry matter, Ca and K in tomato. *Journal of Hortural Science and Biotechnology*. 75: 713- 722.
- Nachtigall, G. y C. Freire. 1998. Previsão da incidência de "bitter pit" em maçãs através dos teores de cálcio em folhas e frutos. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 20: 158- 166.

-
- Nadeau, J. and F. Sack. 2002. Control of stomatal distribution on the Arabidopsis leaf surface. *Science*. 296: 1697- 1700.
- Nadeau, J., and F. Sack. 2003. Stomatal development: Cross talk puts mouths in place. *Trends in Plant Science*. 8: 294- 299.
- Nakajima, H., M. Behboudian, M. Greven and J. Zebge-Domínguez. 2004. Mineral contents of grapes, olive, apple and tomato under reduced irrigation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science-Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde*. 167: 91- 92.
- Naor, A., I. Klein and I. Doron. 1995. Stem water potential and apple size. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 120: 577- 582.
- Naor, A., I. Klein, I. Gal, I. Doron, Z. Ben-David and B. Bravdo. 1997. Irrigation and crop load interactions in relation to apple yield and fruit size distribution. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 122: 411- 414.
- Naor, A. 1998. Relationships between leaf and stem water potential and stomatal conductance in three field-grown woody species. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 73: 431- 436.
- Naor, A. 2001. Irrigation and crop load influence fruit size and water relations in field-grown "Spadona" pear. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126: 252- 255.
- Naschitz, S. and A. Naor. 2005. The effect of crop load on tree water consumption of 'Golden Delicious' apples in relation to fruit size: an operative model. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 130: 7- 11.
- Nava, G., N. Nuernberg, A. Pereira, A. Dechen. 2007. Adubação de crescimento de macieira Cv. Catarina sobre portaenxerto marubakaido em São Joaquim-SC. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 29: 359- 363.
- Nava, G., A. Roque-Denchen and G. Ribeiro-Nachtigall. 2008. Nitrogen and potassium fertilization affect apple fruit quality in Southern Brazil. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*. 39: 96- 107.

-
- Nava, G. and A. Dechen. 2009. Long-term annual fertilization with nitrogen and potassium affect yield and mineral composition of 'Fuji' apple. *Scientia Agricola*. 66: 377- 385.
- Navarro, S. and G. Navarro. 2000. *Química Agrícola. El suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Ediciones Mundi-Prensa. 487 pp.
- Neilsen, G., M. Meheriuk and E. Hogue. 1984. The effect of orchard floor management and nitrogen fertilization on nutrient uptake and fruit quality of 'Golden Delicious' apple tree. *HortScience*. 19: 547- 550.
- Neilsen, D., E. Hogue, G. Neilsen and P. Parchomchuk. 1995. Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple trees. *HortScience*. 30: 508- 512.
- Neilsen, D., P. Millard, G. Neilsen and E. Hoguei. 1996. Sources of N for leaf growth in a high-density apple (*Malus domestica*) orchard irrigated with ammonium nitrate solution. *Tree Physiology*. 17: 733- 739.
- Neilsen, G., P. Parchomchuk, R. Berard, and D. Neilsen. 1997. Irrigation frequency and quantity affect root and top growth of fertigated 'McIntosh' apple on M9, M26 and M7 rootstock. *Canadian Journal of Plant Science*. 77: 133- 139.
- Neilsen, G., E. Hogue and M. Meheriuk. 1999. Nitrogen fertilization and orchard-floor vegetation management affect growth, nutrition and fruit quality of gala apple. *Canadian Journal of Plant Science*. 79: 379- 385.
- Neilsen, D., P. Millard, L. Herbert, G. Neilsen, E. Hogue, P. Parchomchuk and B. Zebarth. 2001a. Remobilization and uptake of N by newly planted apple (*Malus domestica*) trees in response to irrigation method and timing of N application. *Tree Physiology*. 21: 513- 521.
- Neilsen, D. 2001b. Nitrogen Uptake, Efficiency of Use, and Partitioning for Growth in Young Apple Trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126: 144- 150.

-
- Neilsen, G. and D. Neilsen. 2003. Nutritional requirements of apple. In: Apples, botany, production and uses. D. Ferree and I. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp. 267- 302.
- Neilsen, G., D. Neilsen, L. Herbert, P. Millard and S. Guak. 2006. Allocation of dry matter and N to fruit and shoots in dwarf apple in response to sink size and N availability. *Acta Horticulturae*. 721: 33-40.
- Neilsen, G., D. Neilsen and L. Herbert. 2009. Nitrogen fertigation concentration and timing of application affect nitrogen nutrition, yield, firmness, and color of apples grown at high density. *HortScience*. 44: 1425- 1431.
- Neumann, P. 1995. The role of cell wall adjustment in plant resistance to water deficits. *Crop Science*. 35: 1258- 1266.
- Neumann, P. 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant Cell Environment*. 20: 1193- 1198.
- Neumann, P. 2008. Coping mechanisms for crop plants in drought-prone environments. *Annals of Botany*. 101: 901- 907.
- Nicoulaud, B. and A. Bloom. 1996. Absorption and assimilation of foliarly applied urea in tomato. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 121: 1117-1121.
- Niederholzer, F., T. DeJong, J. Saenz, T. Muraoka and S. Weinbaum. 2001. Effectiveness of fall versus spring soil fertilization of field-grown peach trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 126: 644- 648.
- Nielson, J. 1943. Rapid determination of starch: An index to maturity in starchy vegetables. *Industrial and Engineering Chemistry*. 15: 176- 179.
- Niu, G., D. Rodríguez, L. Rodríguez and W. Mackay. 2007. Effect of water stress on growth and flower yield of big bend bluebonnet. *Hort Technology*. 17: 557- 560.
- Nobel, P. 1995. Environmental biology. In: Plant production and protection paper. Agroecology, cultivation and uses of cactus pear. Barbera G., P. Inglese, E. Pimienta-Barrios y E. Arias-Jiménez (eds). Publication Division Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy. pp. 36- 57.

-
- Nosarszewski, M. and D. Archbold. 2007. Tissue-specific expression of SORBITOL DEHYDROGENASE in apple fruit during early development. *Journal of Experimental Botany*. 58: 1863- 1872.
- O'Connell, M. and I. Goodwin. 2007. Responses of 'Pink Lady' apple to deficit irrigation and partial rootzone drying: physiology, growth, yield, and fruit quality. *Australian Journal of Agricultural Research*. 58: 1068- 1076.
- Oaks, A. 1979. Nitrate reductase in roots and its regulation: In: Nitrogen assimilation in plants. Hewitt, E. and C. Cuttings (eds). Acad. Press. N.Y. pp. 217-244.
- Oliver, C., J. Wooldridge and W. Kotze. 1994. Apple quality as related to nitrogen and phosphorus-nutrition. *Journal of Plant Nutrition*. 17: 1005- 1015.
- Palzkill, D., T. Tibbitts and P. Williams. 1976. Enhancement of calcium transport to inner leaves of cabbage for prevention of tipburn. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 101: 645- 648.
- Parkhurst, D. 1978. The adaptive significance of stomatal occurrence on one or both surfaces on leaves. *Journal of Ecology*. 66: 367- 383.
- Parra-Quezada, R., E. Becerril-Román, C. López-Castañeda y A. Castillo-Morales. 2002. Crecimiento del manzano cv Golden Delicious sobre cuatro portainjertos en diferentes condiciones de humedad y nutrición. *Revista de Fitotecnia Mexicana*. 25:193-200.
- Pavel, E. and T. Dejong. 1995. Seasonal patterns of nonstructural carbohydrates of apple (*Malus pumila* Mill.) fruits: Relationship with relative growth rates and contribution to solute potential. *Journal of Horticultural Science*. 70: 127- 134.
- Pavel, W. and A. Villiers. 2004. Responses of mango trees to reduced irrigation regimes. *Acta Horticulturae*. 646: 63- 68.
- Pavol, E. 1995. Stomata density and size of apple tree growing in irrigated and non irrigated conditions. *Biología Bratislava*. 50: 115- 118.
- Peil, R., y J. Galvez. 2005. Reparto de materia seca como factor determinante de la producción de las hortalizas de frutos cultivadas en invernaderos. *Revista Brasileira Agrociencia*. 11: 5- 11.

-
- Pequerul, A., C. Pérez, P. Madero, E. Monge and J. Val. 1993. A rapid wet digestion method for plant analysis. En: Optimization of Plant Nutrition. MAC. Fragoso and M. van Beusichem (Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp. 3- 6.
- Petri, J. y G. Leite. 2008. Macieira. Revista Brasileira de Fruticultura. 30: 857- 859.
- Piesterzeniewicz, C. and K. Tomala. 2001. Some factors influencing storage ability of 'jonagold' apples. Acta Horticulturae. 564: 435- 442.
- Pinta, M., et G. De Waele. 1975. Etalons végétaux pour l'analyse foliare. En Le contrôle de l'alimentation des plantes cultivées. P. Kozma (Ed.). Akademiai Kiado. Budapest. pp. 159- 172.
- Pire, R. and M. Ojeda. 1999. Vegetative growth and quality of grapevine "chenin blanc" irrigated under three pan evaporation coefficients. Fruits. 54: 135- 139.
- Policarpo, M., L. Marco, T. Caruso, P. Gioacchini and M. Tagliavini. 2002. Dynamics of nitrogen uptake and partitioning in early and late fruit ripening peach (*Prunus persica*) tree genotypes under a Mediterranean climate. Plant and Soil. 239: 207-214
- Poni, S., A. Lakso, J. Turner and R. Melious. 1993. The effects of pre and post veraison water stress on growth and physiology of potted Pinot noir grapevines at crop levels. Vitis. 32: 207- 214.
- Poste, S., G. Daily and P. Ehrlich. 1996. Human appropriation of renewable freshwater. Science. 271: 785- 788.
- Poulos, H., U. Goodale and G. Berlyn. 2007. Drought response of two Mexican oak species, *Quercus laceyi* and *Q. sideroxyla* (Fagaceae), in relation to elevational position. American Journal of Botany. 94: 809- 818.
- Priestley, C. 1970. Carbohydrate storage and utilisation. In: Physiology of tree crops. Luckwill, L. and C. Cutting (Eds). Academic Press, New York pp.113- 127.
- Proebsting, E., S. Drake and R. Evans. 1984. Irrigation management, fruit quality and storage life of apple. Journal of the American Society for Horticultural Science. 109: 229- 232.

-
- Raese, J. 2000. Relationship of fertilizers on soil pH and fruit disorders of apples and pears. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 31: 2787- 2792.
- Raese, J. and M. Williams. 1974. The relationship between fruit color of “Golden Delicious” apples and nitrogen content and color of leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 99: 332- 334.
- Raese, J. and S. Drake. 1997. Nitrogen fertilization and elemental composition affects fruit quality of fuji apples. *Journal of Plant Nutrition* 20: 1797-1809.
- Raese, J., S. Drake and E. Curry. 2007. Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of 'Golden Delicious'. *Journal of Plant Nutrition*. 30: 1585- 1604.
- Rao, R., H. Talwar, G. Wright. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf chlorophyll in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. *Journal of Agronomy and Crop Science* 186: 175- 182.
- Reay, P., R. Fletcher and V. Thomas. 1998. Chlorophylls, carotenoids and anthocyanin concentrations in the skin of ‘Gala’ apples during maturation and the influence of foliar applications of nitrogen and magnesium. *Journal of the Science of the Food and Agriculture*. 76: 63- 71.
- Repetto-Giavelli, F., L. Cavieres y J. Simonetti. 2007. Respuestas foliares de *Aristotelia chilensis* (Molina) Stuntz (Elaeocarpaceae) a la fragmentación del bosque maulino. *Revista Chilena de Historia Natural*. 80: 469- 477.
- Rhodes, D. and A. Hanson. 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 44: 357- 384.
- Robbins, J. and E. Domingo. 1958 Potato yield and tuber shape as affected by severe soil moisture deficits and plant spacing. *Agronomy Journal*. 48: 488- 492.
- Robichaux R., K. Holsinger S. Morse. 1986. Turgor maintenance in Hawaiian *Dubautia* species: the role of variation in tissue osmotic and elastic properties. In: *On the economy of plant form and function*. T. J. Givnish (ed.). Cambridge University Press, Cambridge, U.K. pp. 353- 380.

-
- Robinson, D. 1996. Resource capture by localized root proliferation: why do plants bother?. *Annals of Botany*. 77: 179- 185.
- Robinson, T. 2003. Apple orchard planting systems. In: Apples, botany, production and uses. Ferree, D. and J. Warrington. (Eds.). CABI Publishing. Oxon, U.K. pp. 345-407.
- Romero, C., A Espinosa-Ruiz, M. Cutanda, C. Cortina, P. Hernández y F. Cualiáñez-Maciá. 2004. La osmorregulación: Mecanismos y significado. In. La ecofisiología vegetal, una ciencia de síntesis. M. J. Reigosa, N. Pedrol and A. Sánchez, Thompson Editores. Paraninfo S.A. Madrid, España. pp. 603- 620.
- Rontein, D., G. Basset, and A. Hanson. 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic Engineering*. 4: 49- 56.
- Rufty Jr., T., S. Huber and R. Volk. 1988. Alterations in leaf carbohydrate metabolism in response to nitrogen stress. *Plant Physiology*. 88: 725- 730.
- Russell, R. 1977. Plant root systems: Their function and interaction with the soil. McGraw Hill. Book Company. London, U.K. 298 p.
- Saliendra, N., J. Sperry and J. Comstock. 1995. Influence of leaf water status on stomatal response to humidity, hydraulic conductance, and soil drought in *Betula occidentalis*. *Planta*. 196: 357- 366.
- Salisbury, F. y C. Ross. 2000. Fisiología de las Plantas. Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental. Vol 3. Paraninfo-Thomson Learning. Madrid, España. 988 p.
- Samson, J. 1991. Fruticultura tropical. Editorial Limusa. Buenos Aires, Argentina. 395 p.
- Sánchez , E., T. Righetti, D. Sugar and P. Lombard. 1992. Effects of timing of nitrogen application on nitrogen partitioning between vegetative, reproductive and structural components of mature 'Comice' pears. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 67: 51- 58.
- Sánchez-Díaz, M. y J. Aguirreolea. 2001a. Movimientos estomáticos y transpiración. En: Fundamentos de fisiología vegetal. J. Azcón-Bieto y M. Talón (Eds.). McGraw-Hill/Interamericana de España. S.A.U. Editions Universitat de Bracelona. Barcelona, España. pp. 31- 44.

-
- Sánchez-Díaz, M. y J. Aguirreolea. 2001b. Transporte de agua y balance hídrico en la planta. En: Fundamentos de fisiología vegetal. J. Azcón-Bieto y M. Talón (Eds.). McGraw-Hill/Interamericana de España. S.A.U. Editions Universitat de Bracelona. Barcelona, España. 45-64.
- Sands, R. and D. Mulligan. 1990. Water and nutrient dynamics and tree growth. *Forest Ecology and Management*. 30: 91- 111.
- Sauter, A., W. Davies and W. Hartung. 2001. The long-distance abscisic acid sinal in the droughted plant: the fate of the hormone on its way form root to shoot. *Journal of Experimental Botany*. 52: 1991- 1997.
- Schenk, M. and S. Barber. 1980. Potassium and phosphorus uptake by corn genotypes grown in the field as influenced by root characteristics. *Plant and Soil*. 54: 65- 76.
- Schneider, G. y C. Scarborough. 1980. Cultivo de árboles frutales. Compañía ditorial Continental. S.A. México. 445 p.
- Schollander, P., H. Hammel, E. Bradstreet and E. Hemmingsen. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science*. 148: 339- 346.
- Schonfeld M., R. Johnson, B. Carver and N. Mornhinweg. 1988. Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*. 28: 526- 531.
- Schreiber, L. and M. Riederer. 1996. Determination of diffusion coefficients of octadecanoic acid in isolated cuticular waxes and their relationship to cuticular water permeabilities. *Plant Cell Environment*. 19:1075- 1082.
- Schreiber, U., T. Endo, H. Mi and K. Asada. 1995. Quenching analysis of chlorophyll fluorescence by the saturation pulse method: particular aspects relating to the study of eukaryotic algae and cyanobacteria. *Plant and Cell Physiology*. 36: 873 - 882.
- Schulze, E. 1986. Carbon dioxide and water vapor exchange in response to drought in the atmosphere and in the soil. *Annual Review of Plan Physiology and Plant Molecular Biology*. 37: 247- 274.
- Schultz, H., and M. Matthews. 1993. Growth, osmotic adjustments, and cell-wall mechanics of expanding grape leaves during water deficits. *Crop Science*. 33: 287- 294.

-
- Schultz, H. 1996. Water relations and photosynthesis responses of two grapevine cultivars of different geographical origin during water stress. *Acta Horticulturae*. 427: 215- 266.
- Sekiya, N., and K. Yano. 2008. Stomatal density of cowpea correlates with carbon isotope discrimination in different phosphorus, water and CO₂ environments. *New Phytologist*. 179: 799- 807.
- Sekler, D. 2003. A note on transpiration. In *Water productivity in agricultura. Limits and opportunities for improvement*. Kigne J., R. Barrer and D. Molden (Eds.). CAB Internacional. London, U.K. pp. 311- 318.
- Sekler, D., D. Molden and R. Sakthivadivel. 2003. The concept of efficiency in water resources management and policy. In *Water productivity in agricultura. Limits and opportunities for improvement*. Kigne J., R. Barrer and D. Molden (Eds.). CAB Internacional. London, U.K. pp. 37- 52.
- Sentek. 1999. Diviner 2000. Soil Moisture Sensor. User guide version 1.0. Sentek, Pty. Ltd. Australia.
- Serpe, M. and M. Matthews. 1992. Rapid changes in cell wall yielding of elongating *Begonia argenteo-guttata* L. leaves in response to changes in plant water status. *Plant Physiology*. 100: 1852- 1857.
- Serrano, M., D. Martínez-Romero, S. Castillo, F. Guillén and D. Valero. 2004. Effect of preharvest sprays containing calcium, magnesium and titanium on the quality of peaches and nectarines at harvest and during postharvest storage. *Journal of the Science of Food and Agricultura*. 84(11):1270- 1276.
- Shackel, K., H. Ahmadi, W. Biasi, R. Buchner, D. Goldhamer, S. Grusinghe, J. Hasey, D. Kester, B. Krueger, L. Lampinen, G. Mc gourty, W. Micke, E. Mitcham, B. Olson, K. Pelletrau, H. Philips, D. Ramos, L. Schwankl, S. Sibbett, R. Snyder, S. Southwick, M. Stevenson, M. Thorpe, S. Weinbaum and J. Yeager. 1997. Plant water status as an index of irrigation need in deciduous fruit trees. *Hort Technology*. 7: 23- 29.
- Sharp, R. and M. LeNoble. 2002. ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *Journal of Experimental Botany*. 53: 33- 37.

-
- Sheen, J. 1990. Metabolic repression of transcription in higherplants. *Plant Cell*. 2: 1027-1038.
- Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 1997. Gene expression and signal transduction in water-stress response. *Plant Physiology*. 115: 327- 334.
- Siddiqi, M., A. Glass, J. Thomas and F. Mala. 1989. Studies of the regulation of nitrate influx by barley seedlings using NO_3^- . *Plant Physiology*. 90: 806 -813.
- Silva, H. y Rodríguez, J. 1995. Fertilización de plantas frutales. Santiago, Ediciones Pontificia Universidad Católica de Chile. 519 p.
- Silva, C., M. Folegatti, T. Silva, J. Júnior, C. Souza and R. Ribeiro. 2005. Water relations and photosynthesis as criteria for adequate irrigation management in 'Tahiti' lime trees. *Scientia Agricola*. 62: 415- 422.
- Silveira, A., C. Sautter, S. Tonetto de Freitas, G. Galietta y A. Brackmann. 2007. Determinación de atributos de calidad de la variedad Fuji y sus mutantes al momento de cosecha. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 27: 149- 153.
- Sió, J., J. Usall, S. Cabello, M. Aragay y J. Boixedera. 1998. Estudio de las características de los suelos y su influencia sobre la calidad y aptitud a la conservación de la manzana "Golden" en la zona frutícola de Lleida (2): Calidad y aptitud a la conservación. *Fruticultura Profesional*. 94: 36- 50.
- Šircelj, H., M. Tausz, D. Grill and F. Batič. 2005. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. *Journal of Plant Physiology*. 162: 1308- 1318.
- Slack, M. 1974. Studies of stomatal distribution on the leaves of four apple varieties. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 49: 95- 103.
- Slavick B. 1958. The influence of water deficit on transpiration. *Physiologia Plantarum*. 11: 524- 536.
- Smirnoff, N. 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*. 9: 214- 219.

-
- Smith, F. 1986. Interpretation of plant análisis: Concepts and principles. In: Plant Analysis: an interpretation manual. Reuters D. and J. Robinson. (eds). Inkata Press: Melbourne. pp. 1- 12.
- Solari, L. and T. DeJong. 2006. The effect of root pressurization on water relations, shoot growth, and leaf gas exchange of peach (*Prunus persica*) trees on rootstocks with differing growth potential and hydraulic conductance. Journal Experimental of Botany. 57: 1981-1989.
- Spollen, W., M. Le Noble, T. Samuels, N. Bernstein and R. Sharp. 2000. Absciscic acid accumulation maintains maize primary root elongation at low water potentials by restricting ethylene production. Plant Physiology. 122: 967- 976.
- Spreer, W., S. Ongprasert, M. Hegele, J. Wünsche and J. Müller. 2009. Yield and fruit development in mango (*Mangifera indica* L. cv. Chok Anan) under different irrigation regimes. Agricultural Water Management. 96: 574- 584.
- Stiles, W. 1994. Nitrogen management in the orchard. In: Tree Fruit nutrition. Peterson, A. and Stevens R. (eds.). Yakima, WA. pp. 41- 50.
- Steudle, E. 2001. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. Annual Review of Plan Physiology and Plant Molecular Biology. 52: 847- 75.
- Stumm, W. and J. Morgan. 1981. Aquatic Chemistry, 2^a ed., John Wiley, New York. p. 780.
- Swietlik, D., and M. Faust. 1984. Foliar nutrition of fruit crops. In: Horticulture Reviews. Janick J. (ed.). Vol. 6. AVI Publishing Co., Westport, Conn. p. 287- 355.
- Syvertsen, J. 1987. Nitrogen content and CO₂ assimilation characteristics of citrus leaves. HortScience. 22: 289- 291.
- Talluto, G., V. Farina and R. Lo Bianco. 2007. Growth, fruit yield and quality of ‘Golden Delicious’ apple trees under fixed partial root zone drying. Journal of Applied Horticulture. 9: 50- 55.

-
- Talluto, G., V. Farina, G. Volpe and R. Lo Bianco. 2008. Effects of partial rootzone drying and rootstock vigour on growth and fruit quality of 'Pink Lady' apple trees in Mediterranean environments. *Australian Journal of Agricultural Research*. 59: 785-794.
- Tan, S. and B. Buttery. 1982. The effect of soil moisture stress to various fractions of the root system on transpiration, photosynthesis and internal water relation of peach seedlings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 107: 845- 849.
- Telias, A., E. Hoover, C. Rosen, D. Bedford and D. Cook. 2006. Effect of calcium sprays and fruit thinning on bitter pit incidence and calcium content in Honeycrisp apple. *Journal of Plant Nutrition*. 29:1941- 1957.
- Terashima, I. and J. Evans. 1988. Effects of light and nitrogen nutrition on the organization of the photosynthetic apparatus in spinach. *Plant and Cell Physiology*. 29: 143- 155.
- Terblanche, J., K. Gürgen and I. Hesebeck. 1980. An integrated approach to orchard nutrition and bitter pit control. In: Atkinson, D., Jackson, J.E., Sharples, R.O., Waller, W.M. (Eds.), *Mineral Nutrition of Fruit Trees*. Butterworths, London, pp. 71- 82.
- Tezara, W., V. Mitchell, S. Driscoll and D. Lawlor. 1999. Water stress inhibits plant photosynthesis by decreasing coupling factor and ATP. *Nature*. 401: 914- 917.
- Tompkins, G., W. Jackson and R. Volk. 1978. Accelerated nitrate uptake in wheat seedlings: effects of ammonium and nitrite pretreatments and of 6-methylpurine and puromycin. *Physiologia Plantarum*. 43:166-171.
- Torrecillas, A., R. Domingo, R. Galego and M. Ruiz-Sánchez. 2000. Apricot tree response to withholding irrigation at different phenological periods. *Scientia Horticulturae*. 85: 201- 215.
- Toth, V., I. Meszaros, S. Veres, J. Nagy. 2002. Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle pool of maize in field. *Journal of Plant Physiology*. 59: 627- 634.
- Tromp, J. and J. Oele. 1972. Shoot growth and mineral composition of leaves and fruits of apple as affected by relative air humidity. *Physiologia Plantarum* 27: 253- 258.

-
- Turner, N. and M., Jones. 1980. Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation. In: Adaptation of plants to water and high temperature stress. Turner, N. and P. Kramer. (Eds.). Wiley Interscience, New York, EEUU. pp. 87-103.
- Turner, N. 1988. Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. Irrigation Science. 9: 289- 308.
- Tyree, M. and J. Sperry. 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamics stress? Answer to a model. Plant Physiology. 88: 574- 580.
- Val, J. E. Monge, D. Risco and A. Blanco. 2008. Preharvest calcium sprays at high rates increase calcium concentration only in the apple skin. Jouranl of Plan Nutrition. 31: 1889- 1905.
- Van Volkenburgh, E. and J. Boyer. 1985. Inhibitory effects of water deficit on maize leaf elongation. Plant Physiology. 77: 190- 194.
- Vang-Petersen, O. 1980. Calcium deficiency of 'Cox's Orange' apple trees during the fruit growth period. Scientia Horticulturae. 12: 163- 168.
- Vitousek, P., J. Chair, R. Howarth, G. Likens, P. Matson, D. Schindler, W. Schlesinger and G. Tilman 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: causes and consequences. Issues in Ecology. 1: 1- 16.
- Volenec, J., A. Ourry, B. Joern. 1996. A role for nitrogen reserves in forage regrowth and stress tolerance. Physiologia Plantarum. 97: 185- 193.
- Volz, R., F. Harker and S. Lang. 2003. Firmness decline in 'Gala' apple during fruit development. Journal of the American Society for Horticultural Science. 128: 797- 802.
- Wang, C., and J. Tillberg. 1996. Effects of nitrogen deficiency on accumulation of fructan and fructan metabolizing enzymes activities in sink and source leaves of barley (*Hordeum vulgare*). Physiologia Plantarum. 97: 339- 345.

-
- Wang, W., B. Vinocur, O. Shoseyov and A. Altman. 2001. Biotechnology of plant osmotic stress tolerance: physiological and molecular considerations. *Acta Horticulturae*. 560: 285- 292.
- Wang, Y., X. Chen and C. Xiang. 2007. Stomatal density and bio-water saving. *Journal of Integrative Plant Biology*. 49: 1435- 1444.
- Wang, Z., B. Quebedeaux and G. Stutte. 1996. Partitioning of [^{14}C] glucose into sorbitol and other carbohydrates in apple under water stress. *Australian Journal of Plant Physiology*. 23: 237- 243.
- WAPA. (The World Apple and Pear Association). 2008. Disponible en: www.wapa-association.org. (Consulta realizada en 2009).
- Wargo, J., I. Merwin and C. Watkins. 2003. Fruit size, yield, and market value of 'GoldRush' apple are affected by amount, timing and method of nitrogen fertilization. *Hort Technology*. 13: 153- 161.
- Watari, J., Y. Kobae, S. Yamaki, K. Yamada, K. Toyofuku, T. Tabuchi and K. Shiratake. 2004. Identification of Sorbitol Transporters Expressed in the Phloem of Apple Source Leaves. *Plant and Cell Physiology*. 45: 1032- 1045.
- Weatherly, P. 1970. Some aspects of water relations. *Advances in Botanical Research*. 3: 171- 206.
- Webb, K. and J. Burley. 1962. Sorbitol Translocation in Apple. *Science*. 137: 766.
- Webster, A. and M. Hollands. 1999. Orchard comparisons of 'Cox Orange Pippin' grown on selections of the apple rootstock M9. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 74: 513- 521.
- Weinbaum, S., I. Klein, F. Broadbent, W. Micke and T. Muraoka. 1984. Effects of time of nitrogen application and soil texture on the availability of isotopically labeled fertilizer nitrogen to reproductive and vegetative growth of mature almond trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109: 339- 343.
- Wells, C., and L. Wang. 2001. Root efficiency and mineral nutrition in apple. *Acta Horticulturae*. 564: 165- 184.

-
- Westgate, M. and J. Boyer. 1985. Osmotic adjustment and the inhibition of leaf, root, stem and silk growth at low water potentials in maize. *Planta*. 164: 540- 549.
- Westwood, M. and A. Roberts. 1970. The relation-ship between cross-sectional area and weight of apple tree. *Journal of the American for Socienty Horticultural Science*. 95: 28- 30.
- Westwood, M. 1982. *Fruticultura de zonas templadas*. Ediciones Mundiprensa. Madrid, España. pp. 367- 393.
- Widmer, A., W. Stadler and C. Krebs. 2006. Effect of foliar applications of urea and boron on *Malus domestica* and *Pyrus communis*. *Acta Horticulturae* 721: 227- 233.
- Williams, M. and H. Billingsely. 1974. Effect of nitrogen fertilizer on yield, size and color of “Golden Delicious” apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 99: 144- 145.
- Worley, R. 1979. Fall defoliation date and seasonal carbohydrate concentration of pecan wood tissue. . *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 204: 195- 199.
- Wrona, D. and A. Sadowski. 1996. Effects of nitrogen fertilization in young apple orchard. *Acta Horticulturae*. 448: 481- 486.
- Wrona, D. 2006. Response of young apple trees to nitrogen fertilization, on two different soils. *Acta Horticulturae*. 721: 153- 158.
- Wu, Y., W. Spollen, R. Sharp, P. Hetherington and S. Fry. 1994. Root growth maintenance at low water potentials (increased activity of xyloglucan endotransglycosylase and its possible regulation by abscisic acid). *Plant Physiology*. 106: 607- 615.
- Wu, Y. and D. Cosgrove. 2000. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. *Journal of Expimental Botany*. 51: 1543- 1553.

-
- Xia, G. and L. Cheng. 2005. Fruit set and yield in relation to reserve nitrogen and reserve carbohydrates in 'gala' apple trees. 102nd Annual International Conference of the American Society for Horticultural Science. pp. 1083.
- Xia, G., L. Cheng, A. Lakso and M. Goffinet. 2009. Effects of nitrogen supply on source-sink balance and fruit size of 'gala' apple trees. Journal of the American Society for Horticultural Science. 134: 126- 133.
- Xiao-Ming, L and Y. Kakubari. 2001. Photosynthesis and chlorophyll *a* fluorescence of two poplars under water stress. Journal of Forest Research. 6: 211- 215.
- Xu, Z. and G. Zhou. 2008 Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. Journal of Experimental Botany. 59: 3317- 3325.
- Yamada, Y., W. Jyung, S. Wittwer, and M. Bukovac. 1965. Effect of urea on ion penetration through isolated cuticular membranes. Plant Physiology. 39: 978- 982.
- Yancey, P., M. Clark, S. Hand, R. Bowlus and G. Somero. 1982. Living with water stress: evolution of osmolyte systems. Science. 217: 1214- 1222.
- Yu, T., W. Lue, S. Wang and J. Chen. 2000. Mutation of *Arabidopsis* plastid phosphoglucose isomerase affects leaf starch synthesis and floral initiation. Plant Physiology. 123: 319- 325.
- Zegbe-Domínguez, J., A. Serna-Pérez y A. Bravo-Lozano. 2006. Riego parcial de la raíz en manzano "Golden Delicious" en un ambiente semi-árido. Revista de Fitotecnia Mexicana. 29: 69- 73.
- Zegbe, J., M. Behboudian, A. Lang y B. Clothier. 2007. Respuesta del manzano "Pacific Rose" al riego parcial de raíces. Revista Chapingo Serie Horticultura 13: 43- 48.
- Zgallai, H., Steppe, K. and Lemeur, R. 2005. Photosynthetic, physiological and biochemical responses of tomato plants to polyethylene glycol-induced water deficit. Journal of Integrative Plant Biology. 47: 1470- 1478.

-
- Zhou, J., J. Xi, Z. Cheng and S. Li. 2006. Leaching and transformation of nitrogen fertilizers in soil after application of N with irrigation: a soil column method. *Pedosphere*. 16: 245- 252.
- Zhu, J., P. Hasegawa and R. Bressan. 1997. Molecular aspects of osmotic stress in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*. 16: 253- 277.
- Zinselmeier, C., J. Byeong-Ryong and J. Boyer. 1999. Starch and the control of kernel number in maize at low water potentials. *Plant Physmaize at low water potentials*. *Plant Physiology*. 121: 25- 35.
- Zulini, L., M. Rubinigg, R. Zorer and M. Bertamini. 2007. Effects of drought stress on chlorophyll fluorescence and photosynthetic pigments in grapevine leaves (*Vitis vinifera* cv. 'White Riesling'). *Acta Horticulturae*. 754: 289- 294.

Estación Experimental de Aula Dei
Agencia Estatal Consejo Superior de Investigaciones Científicas



Universidad de Zaragoza

